

N° D'ORDRE

279

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Gabriel CATAYÉE

1^{re} THÈSE. — A PROPOS DE L'ORGANOGENESE DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET (ETUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTO-ENZYMATIQUE DURANT LES TOUS PREMIERS STADES DE DEVELOPPEMENT).

2^{me} THÈSE. — PROPOSITION DONNEE PAR LA FACULTE.

Soutenues le **Novembre 1962** devant la Commission d'examen

MM. MATHIAS.....	Président
EMBERGER.....	} Assesseurs
KAHANE.....	
TURCHINI.....	

N° D'ORDRE
279

THÈSES

PRÉSENTÉES
A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

POUR OBTENIR
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR
Gabriel CATAYÉE



1^{re} THÈSE. — A PROPOS DE L'ORGANOGENESE DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET (ETUDE MORPHOLOGIQUE ET HISTO-ENZYMATIQUE DURANT LES TOUS PREMIERS STADES DE DEVELOPPEMENT).

2^{me} THÈSE. — PROPOSITION DONNEE PAR LA FACULTE.

Soutenues le Novembre 1962 devant la Commission d'examen

MM. MATHIAS.....	<i>Président</i>
EMBERGER.....	} <i>Assesseurs</i>
KAHANE.....	
TURCHINI.....	

LISTE DES PROFESSEURS

DOYEN :

M. B. CHARLES *Math. pures*

ASSESSEUR :

M. R. JOUTY *Physique*

DOYEN HONORAIRE :

M. P. MATHIAS *Zool. et Biol.
Générale*

PROFESSEURS HONORAIRES :

M. R. JACQUES	M. E. TURRIERE
M. M. CASTERAS	M. J. SOULA
M. E. CARRIERE	M. G. DENIZOT

PROFESSEURS TITULAIRES :

M. M. MOUSSERON .. *Chimie*
M. L. EMBERGER *Botanique*
M. C. BOUCHET *Physique*
M. P. MATHIAS *Zool. et Biol.
Générale*
M. P. CHATELAIN .. *Minéral. et
Cristallog.*
M^{lle} O. TUZET *Zool. et Biol.
Générale*
M^{lle} G. CAUQUIL *Chimie*
M. J. GRANIER *Physique*
M. J. SALVINIEN *Chimie-phys*
M. G. COUCHET *Mécanique
supérieure*
M^{lle} A.-M. VERGNOUX *Physique*
M. P. SILBER *Chimie
minérale*
M. J. AVIAS *Géologie*
M. P. VIELES *Chimie*
M. J. RABINOVITCH .. *Physique*
M. E. KAHANE *Chim. Biol.*
M. J.-J. MOREAU ... *Mécanique
rationnelle*
M. J. MOTTE *Botanique*
M. C. CHALIN *Physique*
M. I. ASSENMACHER .. *Physiologie
animale*

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

M^{me} J. CHARLES *Mathémat.*
M. R. JACQUIER ... *Chimie*
M^{lle} DE POUQUES *Botanique*
M. R. LAFONT *Physique*
M. P. MURAOUR *Géophys.
appliquée*

MAITRES DE CONFERENCES :

M. J. FALGUEIRETTES *Minéralogie*
M. L. EUZET *Zoologie*
M. C. ROUMIEU *Mathémat.*
M. J. PERETTI *Physique*
M. M. MATTAUER ... *Géologie*
M. P. CAILLON *Physique*
M. J. REMY *Géologie*
M. G. TOURNE *Chimie min.*
M^{me} H. ANDRILLAT .. *Astronomie*
M^{me} VERNET-CORNUBERT *Biologie ani.*
M. A. BONNET *Botanique*
M. P. DEMANGEON .. *Géologie*
M. E. GROUBERT ... *Physique*
M. H. CHRISTOL *Chimie*
M^{me} LAFON *Mathémat.*
M. J. ROUZAUD *Chimie*
M^{me} COLSON-GUASTALLA *Biologie
Phys.-Chim.*
M. J.-P. LAFON *Mathémat.*
M. A. STEINER *Psycho-
physiologie*
M. G. LAMATY *Chimie*
M. C. DELOUPY *Physique*
M. L. GRAMBAST *Botanique*
M. A. MARTINEAU .. *Mathémat.*

CHARGE D'ENSEIGNEMENT :

M. M. LEFRANC *Mathémat.*
SECRETAIRE PRINCIPAL :
M. E. SIAU

SOMMAIRE

Chapitre I. — Introduction.	7
Chapitre II. — Généralités sur le développement du foie.	11
Première ébauche hépatique.	11
Stade glandulaire.	14
Stade hépatique.	15
Les adaptations du tissu conjonctif hépatique.	20
Quelques considérations sur le foie de Poulet.	21
Chapitre III. — A propos de l'utilisation de l'histo-enzymologie comme méthode de recherche en embryologie.	23
A. — Les phosphomonoestérases.	24
Caractères généraux.	24
Aperçu sur les techniques de détections.	25
Méthode de Gomori pour le phosphatase alcaline.	26
Méthodes aux azoïques.	26
Méthodes pour la détection de la phosphatase acide.	26
B. — Anhydrase-carbonique.	27
C. — Succino-déshydrogénase.	27
Chapitre IV. — Méthode de travail sur l'embryon de Poulet.	29
L'œuf de Poule.	29
Choix des œufs.	30
Incubation.	30
Prélèvement et fixation des embryons.	33
Techniques histo-enzymologiques.	35
Exemple d'application de ma technique.	40

Chapitre V. — Répartition de la phosphomonoestérase acide « non spécifique »	45
Le septum transversum.	45
Formation du septum transversum.	48
Etude histo-enzymologique du septum transversum.	50
Les voies biliaires primitives.	53
Activités enzymatiques des voies biliaires.	55
Les formations glandulaires hépatiques.	59
Etude photométrique du septum transversum, des voies biliaires primitives et des formations glandulaires hépatiques.	60
Induction enzymatique.	63
Différenciation cellulaire hépatique.	65
Chapitre VI. — Répartition de la phosphomonoestérase alcaline de l'anhydrase carbonique et de la succino- déshydrogénase.	67
La phosphatase alcaline.	67
L'anhydrase carbonique.	68
La succino-déshydrogénase.	69
Chapitre VII. — Conclusions générales.	71
Bibliographie.	75

A Monsieur le Professeur P. MATHIAS

Doyen honoraire de la Faculté des Sciences

*qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de
cette thèse, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde
reconnaissance pour tous les précieux conseils que j'ai
reçus de lui et l'intérêt qu'il a toujours manifesté à
mon égard.*

A Monsieur le Professeur L. EMBERGER

Correspondant de l'institut

qui a accepté d'être au jury de ma thèse.

A Monsieur le Professeur E. KAHANE

*qui a attisé ma passion de la recherche au cours de son
enseignement.*

A mon Maître, Monsieur le Professeur TURCHINI

Doyen de la Faculté de Médecine

Correspondant national de l'Académie de Médecine

*de qui j'ai reçu une formation dont je suis fier
qui a été l'instigateur de ce travail
qu'il soit assuré de toute ma gratitude et de ma profonde
affection.*

A tous les miens

A tous mes amis.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0084

CHAPITRE I

INTRODUCTION

La formation de certains organes, telle celle du foie est sur bien des points non encore complètement élucidée, je m'efforcerai de les éclaircir.

On ne peut nier la part apportée par la pathologie médicale dans l'explication des phénomènes vitaux dont le foie est le siège. Certains troubles du métabolisme général ont démontré l'importance que prenait le foie dans le déroulement des processus d'anabolisme et de catabolisme des protéines, des glucides, les lipides alimentaires. On a reconnu le grand pouvoir de synthèse hépatique, de même que son rôle exceptionnel de drainer l'organisme de ses déchets nocifs. Le foie possède des fonctions multiples et primordiales, et chaque « râté » dans le fonctionnement normal de cet organe est un faux pas redoutable vers les conséquences pathologiques.

Cependant, si le fonctionnement du foie est aujourd'hui assez bien connu dans son ensemble, si l'anatomie macroscopique et microscopique hépatique est dépouillée de la plupart de ses secrets, il demeure que la formation de cet organe pose encore des problèmes nombreux. Le seul fait de parcourir la littérature embryologique est édifiante à ce point de vue. Depuis REMAK (1854) jusqu'aux embryologistes les plus récents (GIROUD, DA COSTA, 1948, TURCHINI, 1962) les données générales sont fort vagues et souvent l'unanimité n'est pas faite sur des points bien précis tels que l'aspect morphologique de l'ébauche, le nombre de diverticules qui naissent de l'évagination de la paroi ventrale de l'intestin. Jusqu'à ce jour personne n'a souligné la part importante que prennent certaines régions de l'embryon dans le déterminisme même de la formation du foie. Autant de points obscurs, autant de questions posées qui exigent une réponse précise.

L'embryogénèse du foie a été étudiée jusqu'ici grâce aux techniques de l'histologie classique. Les embryologistes ont surtout cherché à améliorer les techniques de fixation. Selon les auteurs, différents liquides ou liqueurs furent proposés qui présentaient des qualités remarquables et permirent d'obtenir d'excellentes coupes admirablement bien colorées grâce à l'hématoxyline qui s'imposait par la finesse de ses images. Ces techniques histologiques qui ont permis de connaître la structure du foie ne donnaient aucun renseignement sur les modalités des sécrétions de cet organe.

Dès 1870, H. FREY a dressé un inventaire des différentes substances qui existent dans les sécrétions hépatiques. Voici la composition chimique du foie telle qu'elle est faite par cet auteur :

« ... On a trouvé dans le foie de l'homme dont le poids spécifique est d'environ 1,057, près de 70 % d'eau, de l'albumine soluble, des corps protéiques coagulés, une substance gélatineuse, des corps gras, des matières extractives, et des substances minérales dans la proportion d'environ 10 %. Il faut ajouter à ces substances une série de produits de décomposition. On a trouvé jusqu'à ce jour, de la substance glycogène, du sucre de raisin, de l'inosite chez le bœuf, les acides lactiques, urique, l'hypoxanthine, la xanthine et l'urée. On n'y a rencontré ni créatine, ni créatinine, ni la tyrosine, ni la leucine. C'est tout au plus s'il existe des traces de ce dernier corps dans le foie à l'état sain. Parmi les produits pathologiques nous citons la cystine... ». Cet extrait tiré du traité d'histologie et d'histochimie de H. FREY (2^{me} édition 1877 pp. 584-585) s'il montre une imprécision certaine des résultats trouvés, prouve que les travaux de l'auteur doivent être considérés comme les précurseurs de l'histochimie actuelle.

Ce n'est que vers 1944 que Jean BRACHET, et d'autres chercheurs, mettant à profit les idées de FREY vont caractériser de façon très précise certains produits de l'élaboration des cellules embryonnaires. Un important bilan est dressé portant sur les lipides, glucides, protides, et les acides nucléiques en particulier. Plus récemment, on a recherché dans les cellules embryonnaires les enzymes. GOMORI et TAKAMATSU (1939) ont réussi à mettre en évidence les estérases et à partir de ce moment de nombreuses recherches sur l'origine de certaines sécrétions enzymatiques ont été faites en utilisant les techniques de ces auteurs. LISON (1960) a rassemblé, dans un livre, l'ensemble des méthodes actuellement employées pour la détection histochimique.

Le premier exposé valable du comportement enzymatique chez l'embryon fut réalisé par Florence Moog (1944) qui utilisa l'embryon de Poulet. Il étudia la variation des estérases dans différents organes, traça des courbes, admit l'hypothèse d'une différenciation enzymatique générale dans l'organogenèse.

Nos connaissances sur la formation du foie étant très insuffisantes, j'ai cherché par des méthodes histochimiques à déceler chez de très jeunes embryons de Poulet les grains de sécrétion des principales enzymes produites par la cellule hépatique. A cet effet, j'ai tout d'abord étudié le développement morphologique du foie et en m'adressant à des embryons de plus en plus jeunes, j'ai pu ainsi suivre l'apparition des premières sécrétions enzymatiques, et savoir le lieu exact de leur formation.

CHAPITRE II

GÉNÉRALITÉS SUR LE DÉVELOPPEMENT DU FOIE

Première ébauche hépatique

D'après PRENANT (1911), le foie naît d'une évagination ventrale de la paroi intestinale, en un point situé en arrière du cœur et correspondant à la zone annulaire hépato-pancréatique. G. DUBREUIL (1947) précise que le foie apparaît chez l'embryon humain de trois millimètres sous forme d'un diverticule en gouttière sur la face ventrale du tube intestinal, entre la zone stomacale et l'origine du canal vitellin. CELESTINO DA COSTA (1948) admet une opinion à peu près semblable : « le foie et le pancréas sont des organes extrêmement apparentés car ils se forment dans la zone du tube intestinal (futur duodénum) ».

Chez l'embryon humain, avant la fin du premier mois de la vie intra utérine, on voit apparaître sur la face ventrale de l'intestin une gouttière à direction longitudinale dont la paroi antérieure s'épaissit rapidement ; c'est l'ébauche hépatique primitive. La région où cette ébauche se montre et, qui est précocement marquée par des épaisissements de l'hypoblaste, est l'anneau hépato-pancréatique, ainsi nommé parce que les ébauches du foie et du pancréas se forment dans son périmètre. L'ébauche hépatique primitive constitue un diverticule d'abord unique, qui se divise en deux branches ; l'une antérieure ou craniale donnera le foie proprement dit, l'autre postérieure ou caudale fournira le canal cystique et la vésicule biliaire, le diverticule primitif devenant lui-même le canal cholédoque. Chez les Amphibiens, les caecums hépatiques, ainsi formés, s'enfoncent dans le vitellus qui forme la paroi ventrale de l'intestin. Chez les Mammifères, ces caecums pénètrent dans un épaisissement du mésoblaste splanchnique ou viscéral et du mésenchyme sous-jacent,

situé en arrière de la cavité pariétale qui contient le cœur, et appelé « bourrelet hépatique » (KOLLIKER) ou « avant-foie » (HIS).

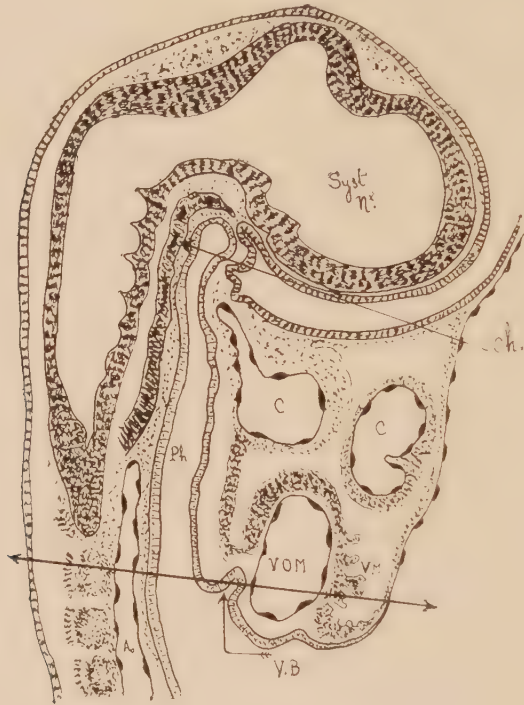


FIGURE 1.

Embryon de Poulet de 48 h. d'incubation
(fixation liquide de Kleinenberg, coloration H.E.)

- C : tube cardiaque
- V.O.M. : Veine omphalo-mésentérique
- V.B. : Voie biliaire primitive
- Ph. : intestin antérieur (pharynx)
- Ch : corde dorsale
- Syst Nx : Système Nerveux
- Ao : Aorte.
- V.M. : Villosités mésentériques.

Ce bourrelet est composé en réalité de deux masses qui se sont fusionnées ; l'une dirigée transversalement ou frontale (« septum transversum ») contient dans son épaisseur les deux veines « omphalo-mésentériques » ou veines vitellines, qui, venues des parois de la vésicule ombilicale ou vitelline convergent vers le cœur. L'autre masse, perpendiculaire à la précédente et par conséquent sagittale (le

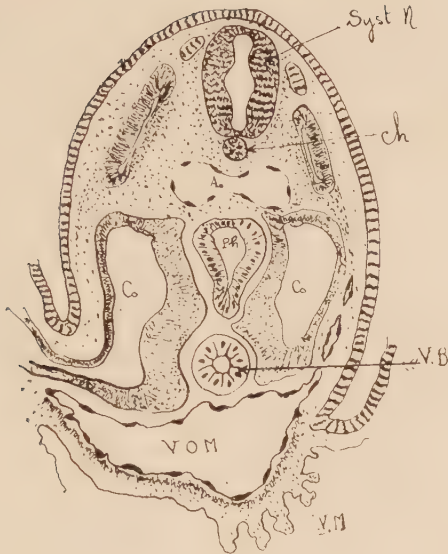


FIGURE 2.

Embryon de Poulet de 48 h.

Coupe transversale faite au niveau de
la flèche indiquée dans la figure 1.
Co : cœlome.

« diaphragme primaire ») est le résultat de la persistance du mésentère ventral à cet endroit. C'est dans ce substratum que vont se développer et se ramifier les ébauches tubulaires du foie. DA COSTA (1948) serait d'un avis beaucoup plus simple. Les ébauches hépatiques formeraient des bourgeons épithéliaux ventraux, qui, en se réunissant, constituent la gouttière hépatique. Cet auteur précise que, chez la Taupe et le Canard, la toute première ébauche hépatique est représentée par une zone de l'épithélium intestinal proche des veines omphalo-mésentériques, dont les cellules se distinguent des autres éléments par leur colorabilité et leur hauteur (champ de LUDWIG).

*
**

Dans le développement ultérieur de la glande hépatique nous distinguons deux stades principaux, avec PRENANT (1911), un stade glandulaire et un stade hépatique proprement dit.

a) **Stade glandulaire**

Dans ce stade les ébauches hépatiques se comportent comme dans le développement d'une glande quelconque. Des bourgeons pleins d'abord, puis creux, naissent sur les caecums

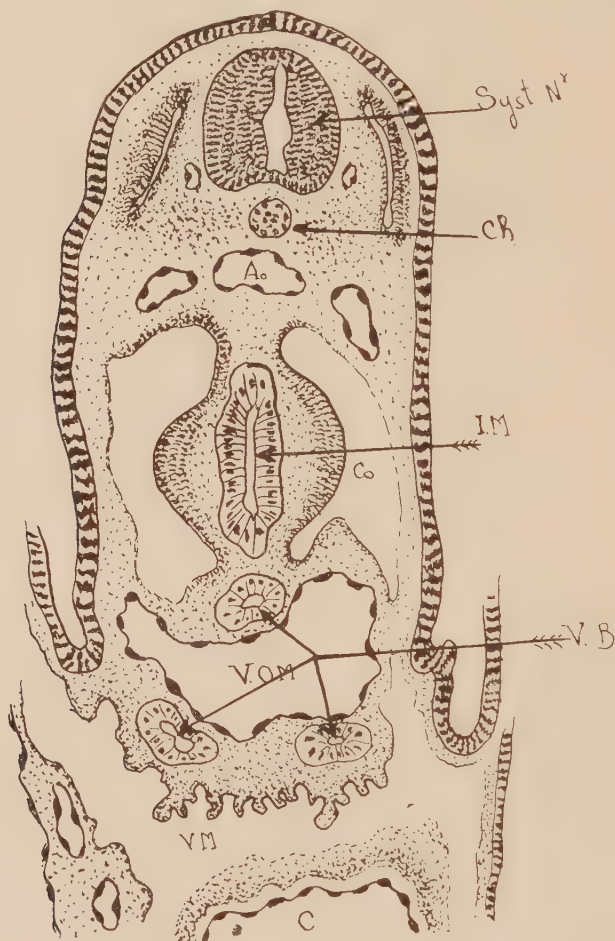


FIGURE 3.

Embryon de Poulet de 56 h.
Evolution des voies biliaires (V.B.) dans le
septum transversum.

V.M. : villosités mésentériques

Co : Cœlome

I.M. : intestin moyen

Ch : chorde dorsale

Ao : Aorte.

primitifs, se ramifient, s'anastomosent entre eux de très bonne heure. Cette anastomose est un trait du développement des organes glandulaires. La disposition réticulée et anastomosée est d'ailleurs imposée à la ramification hépatique par l'état même du milieu où les bourgeons sont plongés, ce milieu renfermant de nombreuses anastomoses vasculaires. Parvenue à ce point de son évolution la portion épithéliale du foie représente une glande en tube ramifiée et réticulée, la future glande biliaire. D'après TOLDT et ZUCKERKANDL (1875) chacune des travées du réseau offre une lumière nette, bordée par trois ou quatre cellules polyédriques (le futur canalicule ou capillaire biliaire). Dans ce réseau épithélial s'enchevêtre un réseau vasculo-conjonctif. Le foie résulte donc de l'interpénétration étroite de deux ébauches.

Les choses demeurent essentiellement en cet état chez les vertébrés inférieurs, tels que les Amphibiens et les Reptiles comme on le sait depuis les recherches d'EBERTH et de HERING (1872) (in manuel de STRICKER, 1872).

Les plus gros conduits de la ramification hépatique forment les canaux excréteurs principaux de la glande biliaire et chacun d'eux commande un lobule biliaire constitué par un territoire du réseau épithélial hépatique.

b) Stade hépatique

A ce stade glandulaire du développement hépatique succède, chez les Vertébrés supérieurs, un stade hépatique ainsi dénommé parce que le foie y prend les caractères qui le distinguent des autres glandes. Ce stade débute chez l'homme à l'époque de la naissance et se continue encore quelque temps après. Il est marqué par deux phénomènes qui altèrent le type glandulaire primitif et le changent en type hépatique propre.

Les tubes hépatiques creusés d'une lumière circonscrite par plusieurs cellules, que l'on trouvait au stade glandulaire, deviennent chez l'adulte des trabécules minces, souvent réduites à une seule rangée de cellules, qui contiennent sur le milieu des faces contigües de deux cellules voisines une lumière glandulaire minime. Cette transformation a été expliquée soit par une division longitudinale des cylindres primitifs (KOLLIKER, Traduction de MM. J. BECLARD et SEE, 1856) et (VAN DER STRICHT 1891), soit par un glissement des cellules le long du canal biliaire, permettant l'allongement

du tube au prix d'une réduction numérique des cellules qui le bordent (TOLDT et ZUCKERKANDL, 1875).

Le stade hépatique est essentiellement caractérisé par l'ordonnance des travées hépatiques par rapport aux vaisseaux sanguins.

L'ébauche vasculo-conjonctive du foie a pour origine le bourrelet hépatique et spécialement le septum transversum avec les vaisseaux qui y sont contenus. Les vaisseaux sont les veines vitellines ou omphalo-mésentériques, qui, venues des parois de la vésicule vitelline suivent l'intestin, pénètre dans le septum transversum et se fusionnent plus en avant pour donner lieu au « sinus réunissant », qui s'ouvre dans le cœur. Chacune des moitiés du septum transversum contient une veine omphalo-mésentérique, qui reçoit et émet un grand nombre de vaisseaux anastomosés situés dans les mailles du réseau hépatique épithélial. Dans le « sinus réunissant » s'ouvrent aussi les veines ombilicales ou allantoidiennes, qui cheminent le long des parois du corps dans l'épaisseur du feuillet somatique du mésoderme. Le confluent de ces quatre vaisseaux forme à l'intérieur du septum transversum un lac sanguin dit « sinus intra-hépatique », qui est pour ainsi dire le compartiment postérieur du « sinus réunissant ». Plus tard deux veines nouvelles apparaissent : la veine mésentérique ou intestinale qui se jette dans la veine omphalo-mésentérique gauche, l'absorbe et devient par sa partie terminale la veine porte, tandis que la veine omphalo-mésentérique droite disparaît, la veine cave, rameau nouvellement formé, s'ouvrant dans la veine ombilicale droite l'absorbe, tandis que la veine ombilicale gauche s'atrophie.

Pendant que s'opèrent ces transformations et ces substitutions de veines, la vascularisation de l'ébauche du foie subit de très importants changements, dont le résultat sera que le sang veineux au lieu de traverser purement et simplement le foie baignera les travées épithéliales hépatiques de la façon la plus intime. Le réseau vasculaire qui s'est développé dans la masse hépatique et qui occupe les mailles du réseau épithélial se met en relation avec les veines vitellines par des vaisseaux plus volumineux, parmi ceux-ci les uns communiquent avec la veine vitelline assez loin du sinus veineux, les autres au contraire débouchent dans cette veine plus près du sinus. Le sang donc venu de la veine vitelline s'engagera dans les premiers qui l'apporteront au foie et fonctionneront ainsi comme des vaisseaux afférents tandis qu'il s'écoulera dans les seconds fonctionnant comme vaisseaux efférents pour retourner dans la veine vitelline

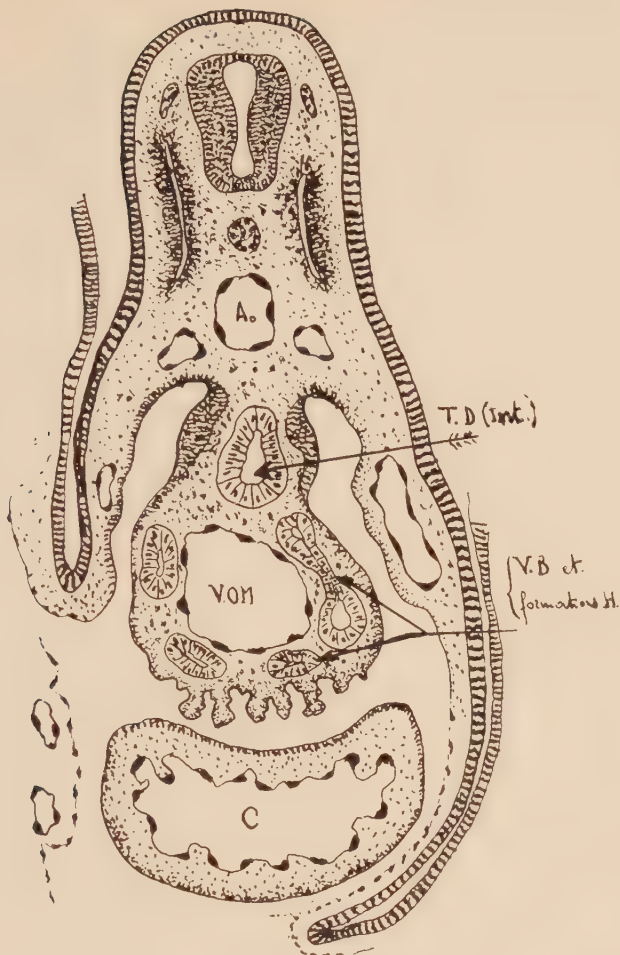


FIGURE 4.

Embryon de Poulet de 70 h.

A partir des voies biliaires se constituent des cordons cellulaires.

T.D. : tube digestif — Ao : aorte

V.O.M. : veine omphalo-mésentérique

C : cœur.

et de là au cœur. Une partie du sang sera ainsi détournée de son trajet primitif, traversera le foie, lui apportant les matériaux qui seront l'objet même de son fonctionnement. Plus tard, la veine porte et la veine cave inférieure seules persistent, les veines afférentes du foie deviennent des branches de la veine porte, ce sont les futurs rameaux portes ; les veines efférentes sont des tributaires de la veine cave inférieure et constituent les futures veines sus-hépatiques. Le réseau capillaire du foie, ainsi

compris entre deux veines afférente et efférente, est dit système vasculaire porte.

Chacune des veines vitellines primitives forme au début le centre d'une sorte de lobe hépatique. Ce lobe primitif se partage ensuite en lobules, qui seront les futurs lobules hépatiques, suivant le mode qu'ont indiqué TOLDT et ZUCKER-KANDL (1875). La lobulation du foie a pour cause un arrangement déterminé du système vasculaire sanguin, qui apparaît chez l'embryon humain au cours du troisième au quatrième mois. Dans leur allongement incessant et leur continuelle ramification, les deux ordres de vaisseaux intrahépatiques afférents et efférents vont à la rencontre l'un de l'autre en se rapprochant de plus en plus et limitent à l'intérieur de la masse hépatique des territoires vasculaires de premier ordre, qu'on peut appeler lobules primitifs et qui donnent à l'organe une constitution grossièrement et peu distinctement lobulée. Chacun de ces territoires est encapsulé et pénétré par des rameaux afférents en provenance de la veine porte qui s'abouchent dans une veine efférente ou sus-hépatique, située au centre. Par la pénétration progressive des ramuscules issus de la veine porte, chacun de ces territoires hépatiques est partagé en îlots plus petits, qui subissent ensuite la même décomposition territoriale. Les derniers territoires formés représentent les lobules hépatiques définitifs.

Le lobule hépatique sera ainsi chez l'adulte un territoire vasculaire ayant pour centre un vaisseau, une veine sus-hépatique, autour de laquelle les vaisseaux capillaires, le tissu conjonctif, les travées épithéliales seront ordonnées radiairement. Ce lobule hépatique ce territoire vasculaire est une formation secondaire, aussi bien par l'époque de son apparition que par son importance morphologique. En effet avant les remaniements vasculaires dont il vient d'être question, le foie, dans la première période glandulaire de son développement, était organisé comme une glande quelconque, c'est-à-dire décomposé en lobules glandulaires représentés ici par les lobules biliaires, d'une tout autre valeur que les lobules hépatiques. Le lobule biliaire est en effet une partie du parenchyme épithélial hépatique dont les éléments sont tous groupés autour d'un canal excréteur biliaire commun qui forme le pédicule du lobule. Dans le lobule hépatique les éléments cellulaires sont groupés autour d'un canal vasculaire sanguin représentant une veine sus-hépatique. Plusieurs lobules vasculaires entrent dans la constitution d'un lobule biliaire.

KOLLIKER, VAN DER STRICHT (1891), KOSTANECKI (1892) ont montré que le réseau capillaire primitif que l'on observe, est remplacé par un autre réseau capillaire, qui apparaît par bourgeonnement des vaisseaux du premier système intertrabéculaire. Il se forme un réseau intratrabéculaire intercalé

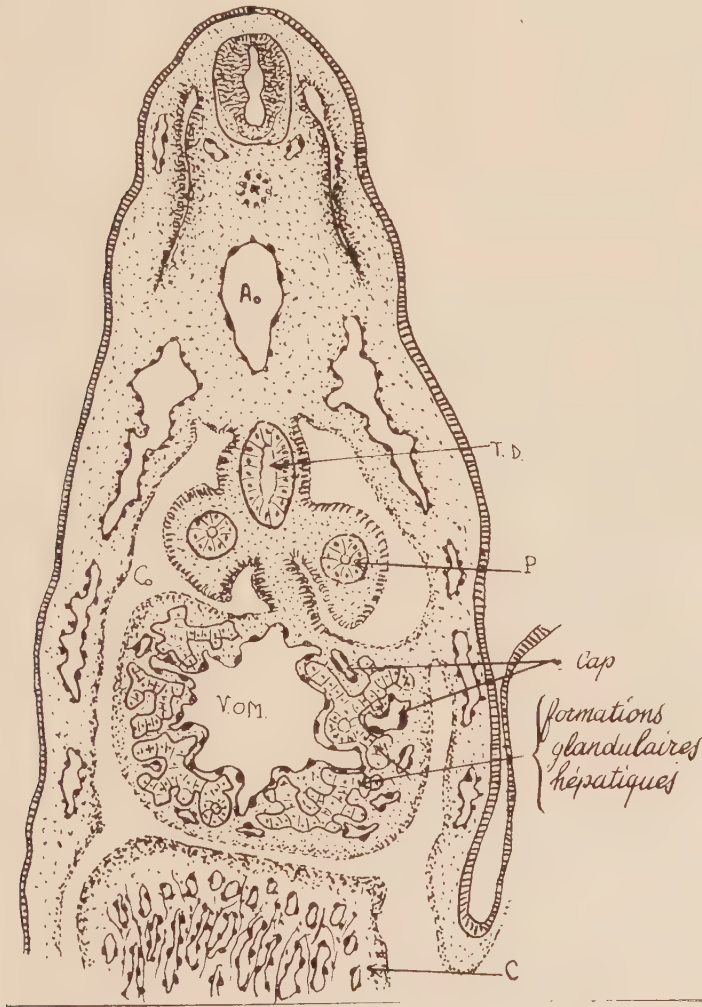


FIGURE 5.

Embryon de Poulet de 92 h. (fix. Klein, H.E.)

Les cordons cellulaires sont constitués. Le septum transversum est creusé de capillaires. La veine omphalo-mésentérique (V.O.M.) est découpée et envahie par les formations cellulaires hépatiques.

Ao : aorte — T.D. : tube digestif — P : poumon — Cap : capillaires — Co : cœlome — C : cœur — V.O.M. : omphalo-mésentérique.

sur le trajet du premier et situé à l'intérieur des travées épithéliales ; ce réseau secondaire constituera le réseau capillaire définitif du lobule hépatique.

PRENANT fait remarquer que cette description réclame un double correctif. « ... Il est sans doute un peu artificiel, dit-il, de distinguer deux périodes successives dans la vascularisation du foie et d'opposer l'un à l'autre deux réseaux, l'un intertrabéculaire et l'autre intratrabéculaire. Le développement des vaisseaux dans le foie est probablement continu et le réseau vasculaire ne devient intertrabéculaire qu'après avoir été intratrabéculaire. En second lieu et surtout le mode de développement du réseau intratrabéculaire est tout à fait spécial et donne naissance à des vaisseaux qui n'ont pas les caractères des capillaires ordinaires ». Ce sont les sinusoides (ou capillaires parenchymateux de GERAUDEL). La circulation sinusoidale se produit grâce à l'union intime qui se fait entre l'endothélium vasculaire et le parenchyme de l'organe. Comme PRENANT, nous devons particulièrement insister sur le fait que les formations vasculaires préexistent dans le parenchyme hépatique, à l'état d'amas et de cordons pleins, formés par des cellules sanguines jeunes, comparables aux îlots ou réseaux sanguins de l'aire vasculaire. Ces amas entrent dans la constitution du réseau vasculaire.

Les vaisseaux des lobules hépatiques embryonnaires, les sinusoides du foie, sont larges et irréguliers, leurs parois mal délimitées, leurs cavités encore obstruées plus ou moins complètement par des cellules sanguines en voie d'évolution. Ils renferment en effet des érythroblastes qui se chargeront d'hémoglobine et deviendront des hématies. On trouve aussi dans ces vaisseaux embryonnaires des globules rouges détruits. Le foie fonctionne comme organe hématopoïétique et corrélativement comme organe hématolytique, pendant une partie de la vie embryonnaire.

Les adaptations du tissu conjonctif hépatique

Le tissu conjonctif se réduit au fur et à mesure que le foie se développe. Ce tissu persiste à la surface de l'organe, où il forme l'enveloppe conjonctive du foie ou capsule de GLISSON. Autour des lobules il englobe les ramifications de la veine porte et les veines hépatiques ainsi que des canaux biliaires qui les accompagnent, dans l'intérieur des lobules où il constitue de très minces cloisons entre les rangées de cellules hépatiques et les capillaires. Diverses régions du

bourrelet hépatique conjonctif sont laissées libres, qui constituent les ligaments du foie. Quelques ligaments sont agrandis par l'adjonction de « vasa aberrantia », qui se composent généralement des deux feuillets de la capsule conjonctive du foie, de tissu conjonctif et de quelques débris de parenchyme hépatique, des vaisseaux sanguins oblitérés et surtout de canaux biliaires. Ces formations représentent ainsi des sortes d'appendices membraneux du foie, intermédiaires au parenchyme hépatique et aux ligaments.

Quelques considérations sur le foie de Poulet

Le développement du foie de l'embryon de Poulet, durant les premiers stades, se fait comme celui de l'homme. Les travaux les plus importants à ce point de vue tels ceux de MATHIAS DUVAL (1889) montrent la similitude profonde dans ces deux types de foie. D'ailleurs cet auteur superpose entièrement les résultats qu'il a obtenus chez l'embryon de Poulet avec ceux observés chez l'embryon humain.

Toutefois il convient de préciser que le développement de l'embryon de Poulet se fait dans un laps de temps relativement court (21 à 23 jours), alors que, chez l'homme l'embryon met neuf mois pour atteindre son développement (nouveau-né). Il faut donc penser que les phénomènes observés chez l'embryon de Poulet ne peuvent pas toujours être appliqués à l'homme de façon intégrale, où les développements se font en quelque sorte au ralenti. Ce facteur du « ralentissement » des phénomènes évolutifs doit avoir une répercussion certaine sur le développement de l'un de ces embryons. On pourrait, inversement, penser à un facteur « d'accélération » des processus dans le même ordre d'idées, chez le Poulet. Quelque soit le cas, nous devons tenir compte de ce facteur qui vraisemblablement joue son rôle dans l'évolution de ces deux espèces d'embryons.

Enfin, nous attirons l'attention sur l'aspect du développement durant les premiers stades, et avec MATHIAS DUVAL, nous insistons tout particulièrement sur la morphologie de l'ensemble des voies biliaires primitives. Notre étude iconographique, d'après des coupes d'embryons, montre les particularités qu'il convient de retenir.

CHAPITRE III

A PROPOS DE L'UTILISATION DE L'HISTO-ENZYMOLOGIE COMME MÉTHODE DE RECHERCHE EN EMBRYOLOGIE

Depuis le début des recherches embryologiques on a voulu trouver un moyen pour reconnaître les premières cellules qui donnent naissance aux organes. On a tout d'abord essayé de les colorer (méthode de VOGT (1925) à l'aide de colorants vitaux : bleu de Nil, brun Bismark, rouge neutre..., et on les a suivies dans leur migration. Les résultats ne furent pas toujours très concluants. Des ablations de parties de l'embryon ou leur destruction sous l'effet de rayons X permirent dans certains cas de reconnaître leur action sur le développement. Enfin les travaux de plusieurs chercheurs, dont SPEMANN (1924), ont mis en évidence des régions embryogéniques et ont expliqué dans une certaine mesure la cause de la différenciation cellulaire. Si pour certains organes on a pu donner des explications satisfaisantes (placodes visuelles, système nerveux...) d'autres, comme le foie, ont peu livré leur secret. Ce dernier organe, bien que quelques confusions aient été faites, est assez bien connu dans son développement morphologique global, mais la description que j'ai donnée précédemment ne correspond qu'à une partie de son embryogenèse. Une autre partie de ce développement n'a pu être dévoilée que par l'application des méthodes histo-enzymologiques. Mes recherches ont porté uniquement sur les enzymes les plus communes du métabolisme général : phosphomonoestérases non spécifiques alcaline et acide, carboanhydrase, succino-déshydrogénase.

Cette méthode de recherche embryologique a permis de comprendre, un peu mieux, l'importance de l'induction enzymatique, comme cause primordiale de la différenciation cellulaire.

A. — LES PHOSPHOMONOESTERASES

L'importance des activités phosphomonoestérasiques dans le foie de l'enfant (MACARI, 1954, CATAYEE 1958) m'a poussé à rechercher comment ces enzymes apparaissaient au cours de la formation du foie. Les travaux de MOOG (1944), chez l'embryon de Poulet, de ROSSI (1952) chez l'embryon humain ont révélé les modifications que subissaient ces diastases au cours de l'embryogenèse, mais aucune précision n'était donnée sur les modalités d'apparition de ces enzymes. L'activité diastasique phosphatasique acide est très élevée, chez l'embryon de Poulet de huit jours d'incubation. Il m'a semblé intéressant de suivre cette activité dans des périodes de développement plus jeunes pour savoir comment les cellules hépatiques se forment. J'ai opéré comme l'a fait CHIQUOINE (1954), qui a suivi la migration des gonocytes dans l'embryon, grâce à l'activité de la phosphatase alcaline.

Caractères généraux des phosphomonoestérases

Ces enzymes sont plus connues sous le nom de phosphatase alcaline ou acide. Elles libèrent des ions phosphoriques à partir de divers substrats naturels ou synthétiques. Les ions libérés sont généralement de ions orthophosphoriques. Leur place dans le métabolisme général est très importante, le phosphore étant un corps qui entre dans presque tous les mécanismes biochimiques. CHEVREMONT (1953) rapproche le rôle de la phosphatase alcaline du noyau cellulaire des activités synthétiques des nucléoprotéines qui y sont contenues. VERNE (1953) insiste sur le fait que la phosphatase alcaline est indispensable dans les processus d'ossification, les diminutions d'activités enzymatiques correspondant avec des troubles de l'ossification... Tous ces travaux mettent l'accent sur l'importance des phosphatases dans la dégradation, mais aussi dans la synthèse des esters phosphoriques. Des précisions particulièrement intéressantes, pour le chercheur, ont été données par L. ARVY (1957).

Sans entrer dans le détail chimique de ces enzymes, je rappelle simplement que les phosphatases peuvent être classées d'après deux notions essentielles :

- celle de la spécificité
- celle du pH optimum

La spécificité enzymatique varie encore, selon que l'on considère le type de liaison en présence ou le substrat sur lequel l'enzyme doit agir. Les méthodes devenues classiques de GOMORI et TAKAMATSU mettent en évidence l'action enzymatique qui porte sur les liaisons phosphoriques. Les études biochimiques ont montré l'importance de la notion de pH au cours des réactions diastasiques. On reconnaît quatre phosphomonoestérases non spécifiques isodynames c'est-à-dire agissant sur le même substrat. On les désigne sous le nom de phosphatases A 1, A 2, A 3, A 4 (FOLLEY, KAY) ou phosphomonoestérases I, II, III, IV (ROCHE).

La phosphomonoestérase I a un pH optimum compris entre 8,8 et 9,4.

La phosphomonoestérase II a un pH optimum compris entre 5 et 5,4.

La phosphomonoestérase III a un pH optimum compris entre 3,9 et 4,2.

La phosphomonoestérase IV a un pH optimum compris entre 5,4 et 6,2.

Dans cette liste une seule diastase est alcaline, la phosphomonoestérase I. Toutes les autres ont un pH acide. Dans les recherches histo-enzymologiques, on ne précise pas toujours les phosphomonoestérases décelées, on se contente de les appeler phosphatase alcaline ou phosphatase acide. La phosphatase alcaline est la phosphomonoestérase I de ROCHE, la phosphatase acide est la phosphomonoestérase II. Généralement les pH employés pour mettre en évidence les activités enzymatiques sont voisins de 9 et de 5.

Aperçu sur les techniques de détection

Si depuis 1923 (ROBISON et COLL) certains chercheurs ont réalisé la détection histochimique de la phosphatase alcaline, il faut attendre 1939, pour voir l'application générale des méthodes de recherche des phosphatases, grâce aux méthodes de GOMORI à Chicago et de TAKAMATSU au Japon. L'importance de l'introduction de ces méthodes dans l'histochemie marque une date importante.

a) *Méthode de GOMORI pour la détection de la phosphatase alcaline.*

GOMORI soumet un milieu à base de glycérophosphate de sodium, tamponné à pH 9,4 par un tampon véronal, à l'action de la phosphatase alcaline. Il ajoute du calcium au milieu. Le phosphate libéré précipite sous forme de phosphate de calcium, qui est transformé ensuite en phosphate de cobalt, puis en sulfure de cobalt noir qui permet de voir la réaction. Cette méthode comprend trois temps dont, seul, le premier répond à l'action enzymatique.

La méthode de GOMORI a joui d'une très grande faveur auprès des chercheurs, nous ne devons pas oublier que cette méthode exige quelques réserves. A l'heure actuelle les méthodes diazoïques ont nettement surpassé cette dernière, c'est à elles qu'il faut recourir pour des recherches précises.

b) *Méthodes aux azoïques.*

Ce sont MENTEN, JUNGE et GREEN (1944) qui ont introduit les premiers cette nouvelle méthode. Ils utilisent comme substrat le phénylphosphate ou le β -naphtyphosphate de calcium. Le naphтол ou le phénol libéré est mis en évidence après couplage avec un sel diazoïque qui donne naissance à un colorant diazoïque. Cette méthode a permis des localisations très précises, exemptes d'artéfacts de diffusion, et dépasse nettement la technique de GOMORI et ses variantes.

c) **Méthodes pour la détection de la phosphatase acide**

Deux méthodes permettent de mettre en évidence l'action de la phosphatase acide. La première repose sur le principe de la technique de GOMORI et consiste à associer les ions phosphoriques à un sel métallique, en l'occurrence les sels de plomb. La deuxième méthode fait appel à la diazotation (SELIGMAN et MANHEIMER, 1949).

— *Méthode de GOMORI pour la phosphatase acide.*

Le milieu contient du glycérophosphate de soude, tamponné à pH 4,7 environ. L'ion phosphorique ne peut être associé à du calcium, le milieu étant trop acide, il est adjoint à un sel de plomb qui précipite sous forme de phosphate de plomb. Le plomb est révélé par l'action du sulfure d'ammonium. Il est nécessaire de répéter les réactions et de les contrôler par d'autres techniques.

— *Méthodes azoïques.*

Dans ces méthodes le substrat est l' α -naphtylphosphate de calcium ; l' α -naphtol libéré est couplé à un sel de diazonium ajoutée au milieu. Cette technique fut modifiée dans le détail par différents auteurs dont GOMORI, RUTENBURG et SELIGMAN, BURSTONE...

Ces différentes méthodes ont été l'objet d'une étude critique très complète, faite par LISON (1960). Encore faut-il ajouter qu'il faut faire des réactions témoins et comparer les résultats sur un grand nombre d'embryons.

B. — ANHYDRASE-CARBONIQUE

Cette diastase est responsable de la catalyse de l'anhydride carbonique. L'une des premières méthodes proposées pour la mise en évidence de cette activité fut celle de KURATA (1949-1953). Elle est une réplique grossière de la réaction de GOMORI pour les phosphatases. Son principe est le suivant : le substrat est un complexe de bicarbonate de sodium et d'un sel métallique bivalent (Co, Ni, Mn et Ca). Sous l'effet de l'enzyme il se fait un carbonate métallique qui précipite. Le sel métallique est mis en évidence après action du sulfure d'ammonium.

Malgré son originalité et malgré de très nombreuses améliorations qui y furent apportée, cette méthode fut critiquée au point de vue de sa spécificité. Elle ne présente un intérêt, pour nous, que dans le cas où nous pouvons superposer les résultats obtenus avec ceux des autres enzymes recherchées.

C. — SUCCINO-DESHYDROGENASE

C'est une enzyme particulièrement répandue dans le métabolisme général. L'acide succinique est transformé en acide fumarique par oxydation, l'hydrogène libéré est porté sur un accepteur convenable. Dans la cellule vivante l'accepteur est un cytochrome. Les inhibiteurs de l'enzyme sont nombreux, on peut citer les acides malonique, oxalo-acétique malique...

REMARQUES

Nous n'avons pas recherché toutes les enzymes localisées dans les régions que nous avons étudiées. Nous avons voulu, avant tout, avoir quelques témoins du métabolisme général et nous avons surtout recherché un moyen convenable pour déceler des phénomènes qu'on ne pouvait pas révéler par les méthodes classiques d'études embryologiques.

CHAPITRE IV

MÉTHODE DE TRAVAIL SUR L'EMBRYON DE POULET

Le rôle qu'ont joué l'embryon de Poulet et le Poulet lui-même dans les sciences biologiques est très important. Un livre fut consacré aux seuls travaux où l'embryon de Poulet a été utilisé, par les auteurs anglo-saxons M. E. RAWLES and D. A. KARNOFSKY en 1952.

Aujourd'hui encore, c'est à l'embryon de Poulet que l'on s'adresse pour résoudre bien des problèmes d'organogenèse ou de morphogenèse, à cause de la facilité de se procurer les matériaux d'études. Le Poulet présente l'avantage incontestable de montrer tous les stades de développement d'un organe, sans qu'il y ait lieu de combler par des hypothèses aucune observation. « L'embryon de Poulet est donc et restera peut-être toujours la base et l'introduction à toutes les recherches d'embryologie générale et comparée » dit MATHIAS DUVAL (1889), dans son Atlas d'embryologie.

L'Œuf de Poule

L'œuf de Poule est un œuf télolécithe, c'est-à-dire qu'il possède un vitellus très abondant, occupant une très grande partie du cytoplasme, dont seule la zone périnucléaire située en surface reste libre. La masse vitelline oppose un obstacle insurmontable à la division cellulaire totale. Cet œuf est méroblastique à segmentation partielle et discoïdale.

L'œuf de Poule est volumineux, il se développe dans un milieu extérieur, après que les premiers stades de segmentation aient eu lieu dans les voies génitales femelles. Le développement à l'extérieur des voies génitales dure environ 21 jours.

La quantité de vitellus de réserve explique la taille considérable de l'œuf. Des substances nourricières et protectrices, dues aux sécrétions des régions terminales des voies génitales après la fécondation, s'accumulent autour de l'œuf et donnent une masse énorme, qui est connue sous le nom vulgaire d'œuf. Mais au sens embryologique ce terme ne désigne que la cellule-œuf, le jaune de l'œuf. La couche épaisse d'albumine, la membrane coquillière, la coquille de l'œuf ne sont que des formations secondaire utilisées soit pour la protection, soit pour la nutrition future de l'embryon.

Choix des œufs

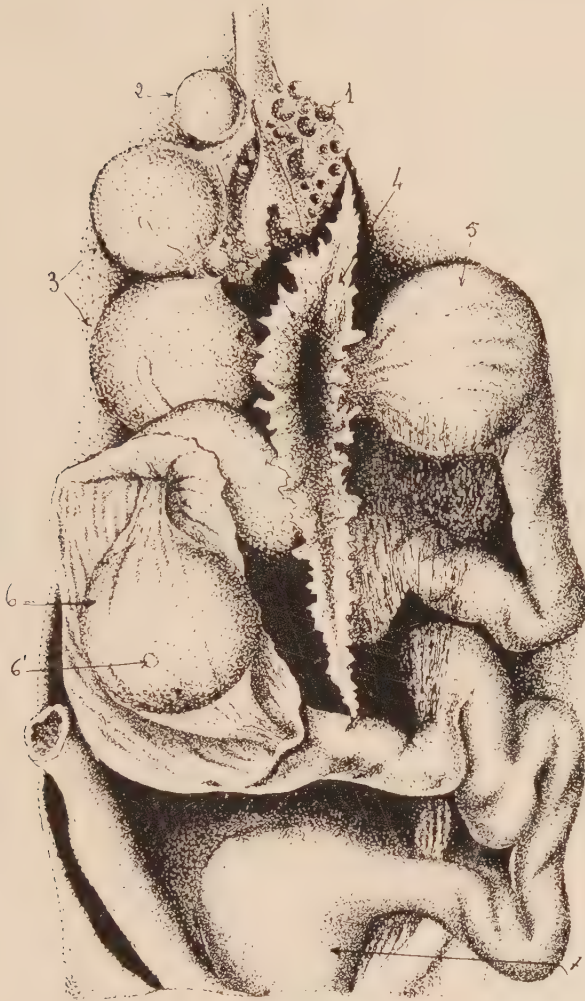
Il faut se procurer des œufs « cochés », c'est-à-dire des œufs provenant d'une basse-cour où il y a un coq. Seuls, ces œufs sont fécondés et aptes au développement. Les œufs peuvent être récoltés un ou plusieurs jours après la ponte, pourvu que ces œufs n'aient pas subi un commencement d'incubation et n'aient pas été abandonnés ensuite. Les œufs pondus depuis plus de quinze jours doivent être écartés et non utilisés. Il est inutile de mirer les œufs au début, car on ne peut rien déceler ; le germe est impossible à distinguer.

Incubation

Les œufs choisis, sont soumis à l'incubation. La meilleure couveuse est la Poule : c'est elle, qui permet le mieux de mener à bien l'incubation jusqu'à l'éclosion des poussins. Si on choisit une poule, on doit la mettre dans une pièce obscure, loin du bruit, on lui donne à manger et à boire, elle consent à couver bien au delà des vingt et un ou vingt deux jours qui suffisent à amener l'éclosion des œufs. Les œufs mis à couver sont marqués au crayon gras ; on inscrit la date du jour de mise en incubation et un numéro d'ordre.

On peut mener à terme une incubation, en se servant de couveuses artificielles que l'on maintient à la température voulue. Il existe plusieurs modèles de couveuses : couveuses à eau chaude, couveuses au gaz, couveuses électriques, couveuses à pétrole... Dans ces différents types de couveuses, les œufs sont placés dans un ou plusieurs plateaux perforés de fentes ovalaires, qui permettent de les retenir dans la position désirée. Deux fois par jour, on ouvre la couveuse et on retourne les œufs, car il est indispensable à partir du troisième jour, de les retourner ; le blastoderme, qui

Fig 6

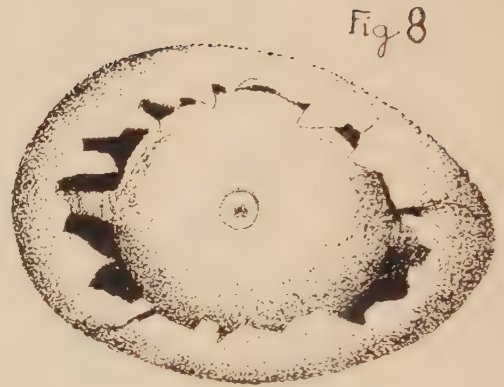


APPAREIL GENITAL DE LA POULE

Les 3 figures (fig. 6, 7 et 8) donnent une vue d'ensemble. Œuf¹ dans l'ovaire et l'oviducte, et embryon dans l'œuf.

1 ovaire — 3 ovule avec stigmate — 2 ovule — 4 extrémité supérieure du pavillon frangé de l'oviducte — 5 jaune d'œuf ou ovule qui vient de s'engager dans l'oviducte — 6 mise à nu par l'ouverture de l'oviducte du jaune d'œuf ou ovule entouré d'albumine. Cette albumine forme les chalazes de chaque extrémité de l'œuf — 6' cicatricule de cet œuf — 7 partie inférieure de l'oviducte : utérus où l'œuf se revêt de sa coquille — 8 ouverture extérieure : cloaque.

Plusieurs œufs sont montrés en même temps dans l'oviducte. Généralement, il n'y a qu'un seul œuf qui séjourne une trentaine d'heures dans l'oviducte, avant d'être pondu.



vient à la surface, ne doit pas être toujours au contact du même point de la coquille. Dans ce cas il pourrait contacter des adhérences qui rendraient le prélevement impossible d'ailleurs la Poule, elle même, procède à cette manœuvre dès qu'elle revient à son nid.

La couveuse avant son emploi doit être réglée à une température fixe et optima. En règle générale, la température de 38° C à 39° C est idéale. Il faut aussi surveiller l'état hygrométrique à l'intérieur de l'étuve ou la couveuse, l'air ne doit pas être trop sec ; une éponge imbibée d'eau, ou une petite cupule remplie d'eau suffisent à régulariser l'atmosphère humide nécessaire à une bonne incubation.

Prélèvement et fixation des embryons

L'œuf arrivé à un temps d'incubation déterminé est enlevé de la couveuse. On le frappe par le gros bout à petits coups avec des ciseaux ou des pinces, de façon à briser sa coquille. On porte l'œuf dans un cristalliseur de deux litres, rempli à moitié d'une solution physiologique de sel (CLNa), portée à 38° C environ. L'œuf étant maintenu couché dans l'eau, on continue à élargir l'ouverture déjà pratiquée. On voit le jaune, qui présente à sa partie supérieure le blastoderme, contenant l'embryon. Avec des ciseaux fins, très pointus, on coupe rapidement la membrane vitelline et la surface même du jaune tout autour du blastoderme ; on laisse reposer l'œuf sur le fond du cristalliseur. On enlève la membrane vitelline à l'aide de pinces fines. Grâce à une spatule coudée de préférence et en métal inoxydable, on fait flotter le blastoderme, détaché du jaune, dans le liquide. Toujours en opérant dans l'eau, on étale le blastoderme sur la spatule, on le retire et on le porte dans le milieu fixateur préparé. Ce fixateur est placé dans une boîte de Pétri et on s'applique à étaler avec grand soin le prélèvement ainsi pratiqué, sans faire de plis. Quelquefois, on recommande d'enlever la totalité de fixateur, avec une pipette, et après avoir bien déplié l'embryon, de verser ce fixateur soigneusement.

La fixation

J'ai employé deux catégories de fixateurs ; un fixateur histochimique et un fixateur pour l'étude morphologique banale.

L'acétone et le formol furent employés pour les recherches histochimiques. Ils ont pour but essentiel, de conserver le tissu dans le meilleur état possible, en détériorant le moins de structure, et en conservant l'activité enzymatique dans ses localisations propres. A ces deux points de vue, on n'obtient pas toujours les meilleurs résultats. J'ai eu l'occasion de montrer les inconvénients de la fixation à l'acétone (CATAYEE 1958), et les différents auteurs qui ont employé ce fixateur ont tous reconnu ses inconvénients. Pourtant, en l'employant tel que je le propose, les pertes enzymatiques sont minimales et les localisations ne changent pas.

Le formol est très loué par certains techniciens et, bien qu'on doive reconnaître quelques altérations possibles au cours des manipulations, il demeure un excellent auxiliaire pour les détections enzymatiques chez l'embryon. La solution employée à 10 % donne des résultats très intéressants.

Notre étude morphologique a été faite en employant comme fixateur le liquide picro-sulfurique ou liqueur de KLEINENBERG. Après avoir recherché parmi toutes les techniques proposées un fixateur de choix, je me suis arrêté à ce dernier. Il est conseillé par VIALLETON (1909), qui a obtenu aussi une très belle collection d'embryon de Poulet grâce à ce liquide. La solution se compose de la façon suivante :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique	100 ml
Acide sulfurique concentré	2 ml

Cette solution étant louche, on doit la filtrer et ajouter après l'opération trois fois son volume d'eau. On obtient ainsi un liquide jaune clair, parfaitement limpide et qui est un fixateur de premier ordre.

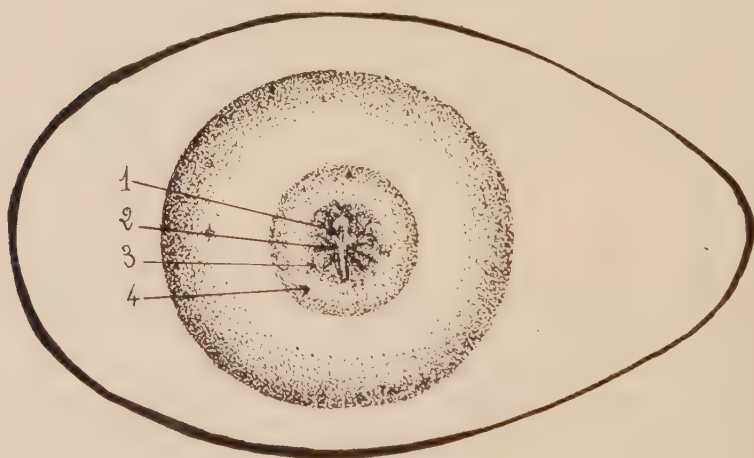


FIGURE 9.

Vue d'ensemble du blastoderme et de l'embryon de Poulet (30^e heure)
Observer l'orientation de l'embryon par rapport au grand axe de l'œuf.

1. Aire transparente.
2. Aire vasculaire.
3. Sinus terminal.
4. Aire vitelline.

Technique histo-enzymologique

Au début de mes recherches j'ai eu des difficultés particulièrement importantes pour obtenir des réactions histo-enzymatiques valables. J'ai essayé les méthodes les plus classiques, mais les résultats obtenus n'étaient pas toujours convaincants. Mes meilleurs résultats furent trouvés grâce à une technique de recherche que je propose. Cette technique se base sur le fait que l'embryon étant particulièrement petit, au début, et riche en eau, les pertes enzymatiques sont obligatoirement très grandes en appliquant uniquement les méthodes classiques. Cette petitesse de l'embryon était, somme toute, un avantage pour moi, pour réaliser des réactions en masse. Il fallait aussi considérer que les meilleurs résultats enzymatiques ne pouvaient être obtenus que sur des coupes fraîches d'embryon ; or mon matériel était trop riche en eau (97 %) et si on réalisait des coupes à la congélation, comme je l'ai fait, cette eau faisait prise en glace et détruisait entièrement les structures que l'on voulait examiner. Toutes mes déductions m'amènèrent à appliquer la technique suivante :

1°) L'embryon est fixé à l'acétone anhydre glacial, pendant 12 à 24 heures au frigidaire à 0° C. On peut après douze heures de fixation placer l'embryon dans une solution d'acétate de cellulose à 1 % dans de l'acétone pendant douze heures encore au frigidaire. Si on préfère employer le formol à 10 %, je conseille de laisser l'embryon séjourner deux heures au maximum dans ce liquide et ensuite le laver pendant vingt quatre heures dans du liquide de LOCH, selon un procédé fidèle à DALCQ.

2°) L'embryon est porté, en totalité, dans le milieu de réaction (appelé improprement milieu incubateur). Le substrat sur lequel l'enzyme doit agir diffère selon l'enzyme que l'on recherche.

Pour la phosphomonoestérase alcaline, j'opère comme suit :

Glycérophosphatase de soude à 2 %	10 ml
Véronal sodique à 2 %	10 ml
Chlorure de calcium à 2 %	5 ml
Sulfate de magnésium à 2 %	2 ml
Eau distillée q. s.	50 ml

l'embryon doit séjourner 2 heures dans ce milieu à 38° C.

EXEMPLES DE REACTIONS HISTO-ENZYMOLOGIQUES



FIGURE 10.

Coupe longitudinale sagittale.

Embryon de Poulet de 25 heures d'incubation
(réaction enzymatique phosphatase acide).

Niveau des différentes coupes.

1 tube nerveux — 2 chorde dorsale — 3 ectoderme
— 4 entoderme — 5 mésoderme — 6 région pharyn-
gienne — 7 zone « X ».

Les flèches correspondent au sens des coupes
transversales et à leurs différents niveaux.



FIGURE 11.



FIGURE 12.

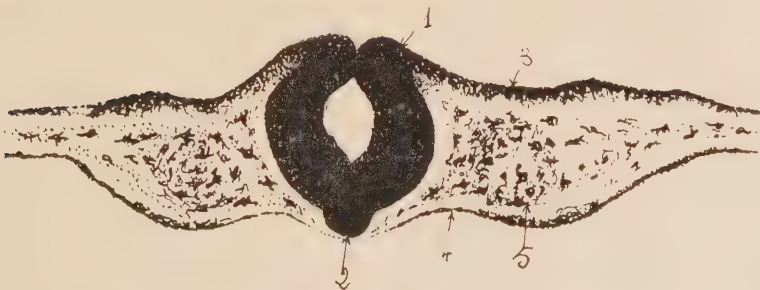


FIGURE 13.



FIGURE 14.

Pour la phosphomonoestérase acide « non spécifique », le bain est le suivant :

Solution molaire d'acétate de soude	2,5 ml
Solution de nitrate de plomb à 5 %	1 ml
Eau distillée	50 ml
Solution de glycérophosphate de soude à 3 %	5 ml

Cette solution est louche. Il faut la filtrer. Il convient de vérifier le pH de la solution qui doit être voisin de 5. Le temps de séjour de la pièce dans le milieu varie de douze à dix huit heures à 38° C.

3°) Le troisième temps de ma méthode possède la particularité d'effectuer la réaction enzymatique en bloc sur le prélèvement entier. L'intérêt de cette méthode est grand, parce que l'embryon est encore de faibles dimensions, son épaisseur n'étant que de quelques microns durant les cinquante premières heures du développement. Dans ces conditions, les pertes enzymatiques sont beaucoup moindres que si on faisait ces mêmes réactions sur des coupes.

Au sortir du milieu, la pièce est lavée rapidement dans de l'eau distillée durant une minute au grand maximum, afin de ne pas dissoudre le glycérophosphate de calcium ou de plomb, formé sous l'action enzymatique sur le substrat, ce qui occasionnerait des pertes énormes. Pour mettre la phosphatase alcaline en évidence on procède par réaction de substitution. En effet on remplace le phosphate de calcium par du phosphate de cobalt. Cette réaction s'obtient en soumettant la préparation à l'action d'une solution de nitrate de Cobalt à 2 % pendant dix minutes. Puis, après avoir lavé très rapidement la pièce, on la soumet à l'action du sulfure d'ammonium en solution à 1 %, on laisse agir la solution sulfureuse pendant 5 minutes, la pièce noircit en totalité.

Pour la phosphatase acide, après avoir enlevé la pièce de l'incubateur, celle-ci est aussi lavée rapidement, et soumise à l'action d'une solution de sulfure d'ammonium à 1 %. La pièce ne tarde pas à noircir en montrant ainsi la présence de sulfure de plomb noir.

On lave la pièce après l'action du sulfure d'ammonium.

4°) On fait subir à la pièce une déshydratation en vue de l'inclusion à la paraffine, selon la technique courante. Toutefois je précise que le solvant de la paraffine employé est le toluène ou le benzène, parce que l'éclaircissement obtenu est supérieur à celui que donne le xylol.

L'inclusion est réalisée avec une paraffine molle (54°), ce qui permet d'obtenir facilement au microtome des rubans très réguliers. Les coupes sont montées sur lames en séries et numérotées. Chacune des lames est placée dans la solution de sulfure d'ammonium, qui renforce ainsi la coloration noire des coupes. En dernier lieu, les lamelles sont montées en milieu neutre.

Les techniques appliquées pour la mise en évidence de l'anhydrase carbonique et la succino-déshydrogénase sont sensiblement différentes. Les réactions sont faites, toutes en bloc sur l'embryon, aussitôt après le prélèvement, puis j'opère une fixation au formol à 10 % ou à l'acétone. La suite des opérations a lieu comme de coutume : inclusion à la paraffine, coupes, etc... Pour la mise en évidence de l'anhydrase carbonique, j'ai utilisé la technique de KURATA avec les variantes de COQUOIN-CARNOT et BARBARIN. Après le prélèvement de l'embryon, on pratique une légère fixation à l'acétone glacial (15 minutes environ). On fait un lavage très rapide à l'eau distillée, et on place la pièce dans la solution suivante :

Bicarbonate de sodium	8 gr
Chlorure de cobalt	1 gr
Eau	100 ml

La pièce demeure dans ce milieu durant 15 minutes, à la température du laboratoire. Elle est lavée ensuite, dans une solution tamponnée à pH 8 environ. Enfin la réaction est mise en évidence par l'action du sulfure d'ammonium à 1 %. On lave, on fixe au formol, on pratique inclusion à la paraffine, on coupe... comme pour la confection de coupes ordinaires.

La succino-déshydrogénase est mise en évidence selon la technique de FARBER et LOUVIERE (1956) avec le bleu de tétrazolium. Les pièces prélevées sont portées d'abord dans

une solution tampon au phosphate (0,1 M) à pH 7,4 glacée, puis dans le milieu suivant où elles séjournent 15 minutes environ :

Succinate de sodium 0,5 M	0,3 ml
Tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4	1 ml
Chlorure de calcium 0,004 M	0,3 ml
Bicarbonate de sodium 0,6 M	0,15 ml
Solution de tétrazolium à 0,1 %	0,05 ml
Eau distillée	0,5 ml

Il convient d'évacuer l'air par un courant d'azote. On rince et on fixe au formol, la suite des opérations se fait comme plus haut.

Toutes ces recherches sont réalisées aussi sur des coupes témoins, qui ont subi l'inhibition enzymatique, soit par la chaleur, soit par un inhibiteur spécifique.

Les réactions diastasiques ont été faites sur 300 embryons d'âges différents. J'ai réalisé une intéressante collection d'embryons de Poulet, colorés aussi de façon banale par l'hématoxyline et l'éosine, dans le but de vérifier les régions étudiées enzymatiquement.

Les résultats obtenus après l'étude des différentes réactions enzymatiques sont superposables à ceux de la phosphomonoestérase acide « non spécifique », à peu de différences près. C'est pour cette raison que dans mon exposé je parlerai surtout de la phosphomonoestérase acide « non spécifique » plus largement. Mais il est bien entendu que tout ce que je dirai, sera valable pour toutes les enzymes que j'ai recherchées.

Exemple d'application de ma technique

L'embryon de vingt cinq heures d'incubation est le type idéal pour l'application de la méthode proposée. L'activité enzymatique révélée est particulièrement intense dans tout l'embryon. Il est très facile de reconnaître les différents feuillets, et les lieux de différenciation importante sont fortement individualisés. Le tube nerveux et la chorde dorsale sont les régions qui se signalent les premières. Les activités enzymatiques y sont très élevées, ces deux régions sont en outre délimitées avec une netteté exceptionnelle. L'ectoblaste et l'entoblaste se présentent aussi comme des zones très actives. Le mésoderme est peu riche en cellules, mais dénote la présence d'une substance fondamentale particulièrement abondante. Cependant les

actions diastasiques sont uniquement situées dans les cellules. Les coupes pratiquées à différents niveaux permettent de localiser les activités enzymatiques avec beaucoup plus de précision ; on peut ainsi connaître l'étendue générale de telle ou telle zone active, et ainsi on peut déterminer les dimensions des zones embryogéniques. Ainsi qu'on le verra par la suite, ces activités enzymatiques correspondent, chez l'embryon, à des manifestations de différenciations cellulaires. C'est l'opinion d'ailleurs que F. Moog se fait d'une façon générale de ces activités enzymatiques chez les jeunes embryons.

La formation des organes est encore plus riche en enseignement lorsqu'on pratique des coupes dans les différents plans de l'espace. C'est pour cela qu'il m'a semblé intéressant de faire des coupes longitudinales (frontales et sagittales).

Ma méthode m'a permis de relever les fines variations enzymatiques qui ne sont pas toujours décelables par les techniques courantes ; par exemple : la différenciation d'activité enzymatique présentée au cours du développement du système nerveux. (F. Moog a aussi relevé cette particularité des activités enzymatiques).

La formation de la gouttière nerveuse s'observe au cours du développement embryonnaire, environ entre la 22^{me} et la 25^{me} heure. A ce moment la gouttière nerveuse montre une activité enzymatique intense, sans localisation sélective. Sur toute son étude le système nerveux à ce stade, révèle une activité métabolique particulièrement marquée.

Chez un embryon d'une trentaine à une quarantaine d'heures d'incubation, les activités enzymatiques ne sont pas très différentes. Les réactions ont les mêmes valeurs que celles d'embryons plus jeunes et l'activité enzymatique est régulièrement répartie depuis la région céphalique jusqu'à la région caudale.

L'embryon, âgé d'une cinquantaine à une soixantaine d'heures, présente un système nerveux constitué de deux parties, un segment médullaire et un céphalique. Ces deux parties se distinguent l'une de l'autre par la distribution de l'activité enzymatique. A cette période dans le segment médullaire, l'intensité des réactions glycérophosphatasiques a beaucoup diminué. Mais ce n'est pas une diminution uniforme ; certaines zones de la moelle ont subi une perte qui peut se chiffrer à 80-90 % tandis que d'autres zones ont une activité diastasique renforcée. Enfin des réactions nouvelles apparaissent. Le toit du segment médullaire révèle toujours une action phosphatasique acide fortement marquée. Il en

est de même des régions des plaques alaires avoisinantes. La zone qui entoure le canal épendymaire présente une très forte activité, qui est en rapport vraisemblablement avec le rôle sécrétoire de cette partie de la moelle. A l'opposé de cette zone qui est interne, la zone périphérique externe montre aussi une activité franche des phosphomonoestérases acides. Les zones para-épendymaires et latérales sont séparées par une zone à activité nulle. Le plancher du segment médullaire ne présente qu'une activité de très moyenne importance. Nous pouvons dire que le segment médullaire se caractérise, avant tout, par trois localisations enzymatiques fortement sélectives : une première dans la région du toit, une seconde dans la région para-épendymaire, et une dernière dans la zone périphérique latérale du tube médullaire.

Quant au segment céphalique, il ne présente pas de particularités, et son activité diastasique est semblable à celle d'embryons plus jeunes.

Au cours de la période d'incubation allant de la soixante-dixième heure à la quatre-vingt-seizième heure et plus, nous observons une diminution globale des activités diastasiques au niveau des différents segments. Ces activités vont en diminuant au fur et à mesure que l'embryon grandit (Moog,



FIGURE 15.

Distribution des phosphomonoestérases acides chez l'embryon de Poulet. Segment médullaire.

a. embryon d'une trentaine d'heures ; b. embryon d'une soixantaine d'heures.

ROSSI). Le segment céphalique se distingue à ce stade par la répartition des actions diastatiques dans la région moyenne de la paroi des vésicules.

En résumé, l'activité enzymatique du système nerveux de l'embryon au cours des premières heures d'incubation se présente comme le résultat d'un métabolisme qui est d'abord exceptionnellement intense, mais uniforme au début. Au fur et à mesure que l'embryon grandit, les activités enzymatiques diminuent mais, chose qui a ma connaissance n'a pas encore été signalée, se sélectionnent et se concentrent dans des points spéciaux. Ces constatations ont été facilitées par l'application de ma technique de recherche, ce qui m'a permis de préciser certains points de détail.

*
**

Mes résultats sont classés en plusieurs groupes. Je distingue trois catégories de faits :

- des observations sur le septum transversum ;
- des observations sur les voies biliaires primitives ;
- des observations sur les formations glandulaires hépatiques et sur le réseau vasculaire.

Les recherches ont été faites sur des embryons dont l'âge variait de 15 h d'incubation à 120 h.

Les résultats sont groupés en deux parties d'inégale valeur. Dans la première sont portées les activités de la phosphomonoestérase acide « non spécifique ». Elle représente la partie la plus importante, et pour cette raison nous lui avons accordé une attention toute spéciale. La deuxième partie groupe les résultats recueillis au cours de l'étude de la phosphomonoestérase alcaline, de l'anhydrase carbonique et de la succino-déshydrogénase.

CHAPITRE V

RÉPARTITION DE LA PHOSPHOMONOESTERASE ACIDE “ NON SPÉCIFIQUE ”

LE SEPTUM TRANSVERSUM

J'ai cherché dans les travaux publiés actuellement une définition du septum transversum, précise, nette, et sans ambiguïté, mais la plupart des documents m'ont laissé perplexe. D'une façon générale, dans ces travaux, le septum apparait comme une région très floue, mal définie, souvent considérée comme peu importante chez l'embryon. Néanmoins, la description classique du septum transversum est associée le plus souvent avec le développement du foie, avec la formation du diaphragme primitif, avec le cloisonnement du coelome. Et qui plus est, on confond presque les rapports vasculaires particulièrement importants de cette région avec ceux de la zone cardiaque avoisinante.

A mon avis, le septum transversum doit être d'abord reconnu comme une formation propre à l'embryon, et qui n'a pas son équivalent chez l'adulte. C'est un fait que des organes de nature très différente se forment à partir de lui, mais à la naissance il est impossible de reconnaître dans ces organes une ressemblance quelconque avec cette région qui a permis leur formation. On ne peut pas en effet confondre le foie adulte avec le septum transversum, ni le diaphragme, ni les nombreux ligaments que l'on reconnaît dans cette zone.

Des observations d'une extrême importance (réactions enzymatiques) permettent de reconnaître à l'heure présente, au septum transversum, une signification spéciale que l'on ne pouvait jusqu'alors soupçonner. (G. CATAYEE, 1962)

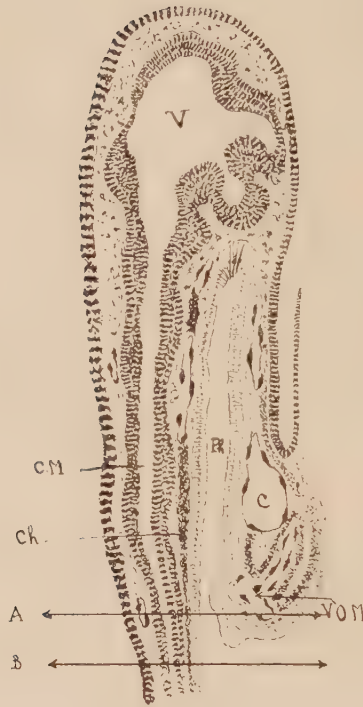


FIGURE 16.

Coupe montrant les rapports du cœur (C) avec la veine omphalo-mésentérique (V.O.M.) et le septum transversum.

Ph : pharynx (intestin antérieurs)

V : vésicules de l'encéphale

C.M. : canal médullaire

Ch : corde dorsale

A et B : différents niveaux de coupes transversales.

Nous connaissons dans l'embryon des formations, qui de la sorte, jouent un rôle de tout premier plan dans la genèse d'autres organes, nous ne voulons, comme exemple, que citer le corps de WOLFF, qui régit l'organogenèse de l'appareil génito-urinaire.

Avant de définir le septum transversum, nous étudierons la formation et l'évolution de cet organe transitoire chez l'embryon de Poulet. Nous pensons que les explications que nous aurons fournies ici seront valables pour le développement et la description de cette formation chez tous les animaux, y compris l'homme.

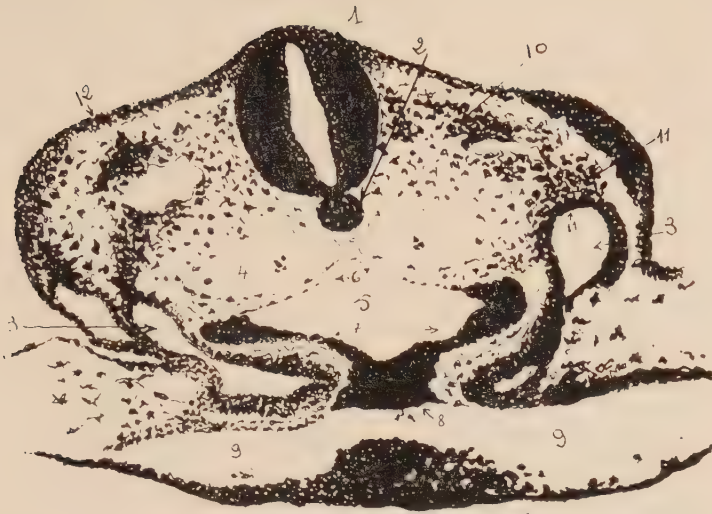


FIGURE 17. — Embryon de Poulet de 45 heures. Réaction phosphatasique acide. Localisation des activités dans le septum transversum. Coupe intéressant A, fig. 16.

1 Tube nerveux — 2 Chorde dorsale — 3 Cœlome — 4 Aorte — 5 Intestin moyen — 6 Partie postérieure de l'entoblaste — 7 Partie antérieure de l'entoblaste — 8 Septum transversum, en relation avec le « Sinus réunissant » — 9 Confluence des 2 veines omphalo-mésentériques formant le « Sinus réunissant » — 10 Somites — 11 Plaque néphrotomiale — 12 Ectoblaste.

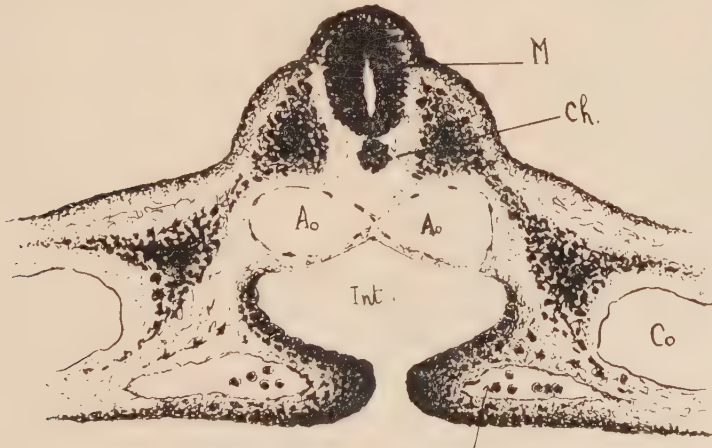


FIGURE 18

Coupe transversale intéressant B, fig. 16.

Ao : aorte

Co : cœlome

Int : intestin moyen

V.O.M. : veine omphalo-mésentérique

M : Moëlle

Ch : chorde dorsale.



FIGURE 19. — Septum transversum vu avec quelques détails cellulaires.

FORMATION DU SEPTUM TRANSVERSUM

Le septum transversum se constitue ainsi chez l'embryon de Poulet à partir de la quarantième heure d'incubation.

Chez l'embryon de 36 heures d'incubation, les 3 feuillets embryonnaires sont déjà évolués. Le tube nerveux est ouvert aux deux extrémités par les neuropores antérieurs et postérieurs. La chorde dorsale est très nettement formée, et les trois feuillets montrent quelques particularités, surtout le mésoblaste. En avant de l'entoblaste, dans la portion de l'intestin antérieur, on reconnaît un repli extra-embryonnaire, de nature mésoblastique, qui renferme le tube cardiaque primitif. En arrière de ce tube, il existe une zone constituée de quelques cellules mésenchymateuses que MATHIAS DUVAL appelle la zone « X ». Cette zone est située à l'extrémité du repli cardiaque, accolée à la partie antérieure du conduit réunissant l'intestin à la vésicule ombilicale. Elle permet de séparer l'intestin antérieur de l'intestin moyen. A cette période il n'y a pas de vaisseaux dans cette zone « X ».

Vers la quarante huitième heure d'incubation, les limites de cette zone sont très nettes. Elle est bordée à la partie postérieure par l'aditus anterior, à la partie antérieure par la région cardiaque, en bas par l'entoblaste vitellin, et en haut par l'entoblaste intestinal (fig. 16).

Le septum transversum est entouré sur les côtes par la splanchnopleure. Sa constitution histo-embryologique est simple. Entre deux plans entoblastiques et deux plans splanchniques se situe un tissu mésenchymateux très développé, qui comprend une substance fondamentale particulièrement riche et abondante et des cellules mésenchymateuses très nombreuses. On observe deux vaisseaux, à proximité du sinus réunissant les veines omphalo-mésentériques. Les cellules mésenchymateuses sont des cellules étoilées ressemblant aux cellules conjonctives, à cytoplasme peu abondant et à noyau très chromatique. Des figures mitotiques y sont fréquentes. Durant cette période, on ne décèle, morphologiquement aucun amas cellulaire susceptible de représenter une formation quelconque.

La substance fondamentale ne dénote pas de particularités, à part son abondance, laquelle est visible sur les coupes embryologiques par l'écart qui est laissé entre les cellules.

Les régions coelomiques du septum transversum présentent un revêtement épithélial important par l'allure des cellules et leur morphologie. Ce sont des cellules de types prismatiques, placées sur deux ou trois rangs. Il s'agit donc d'un épithélium pluristratifié. A la limite coelomique, les cellules ne présentent aucune différenciation spéciale, sinon une basophilie remarquable.

De la cinquantième heure à la soixante dixième heure d'incubation, le septum transversum subit une évolution fort impressionnante. La vascularisation s'établit de façon très intense ; cette vascularisation est individualisée par les veines omphalo-mésentériques droite et gauche, les veines ombilicales et vitellines et enfin les veines mésentériques proprement dites. Les territoires cellulaires sont fortement réduits. D'ailleurs cet espace réservé aux cellules devient au fur et à mesure de plus en plus petit et se réduit à quelques travées qui prennent l'allure de villosités frangeuses que MATHIAS DUVAL dénomme villosités mésentériques. Le septum transversum se sépare du cœur par un espace qui est la cavité pleuro-péricardique. Durant cette période les rapports avec l'entoblaste se sont modifiés énormément. Le tube digestif s'est fermé et le septum est en relation avec l'intestin moyen, qui a déjà donné naissance à la voie biliaire primitive, point de départ des voies biliaires. L'accroissement excessif de la veine omphalo-mésentérique droite se caractérise très nettement aux dépens de la veine homologue gauche qui s'atrophie. On observe progressivement l'envahissement de ce

vaisseau par les cordons cellulaires hépatiques, peu nombreux à ce stade.

En résumé, le septum transversum durant cette période subit une régression très importante au profit des formations vasculaires et des éléments hépatiques en voie de formation. Il persistera des reliquats qui donneront naissance au diaphragme dans la région antérieure, et à des ligaments de fixation du cœur, du foie...

ETUDE HISTO-ENZYMOLOGIQUE DU SEPTUM TRANSVERSUM

La recherche des activités enzymatiques permet de suivre avec facilité la constitution du septum transversum. Les meilleurs renseignements ont été fournis par la détection des activités enzymatiques phosphomonoestérasiques acides non spécifiques.

Il est un fait remarquable à constater, c'est l'amoindrissement progressif de l'ouverture de l'intestin moyen sur la vésicule vitelline. Le septum transversum prend une part active dans cette action. C'est une zone à prolifération intense, ce qui est en rapport avec son activité métabolique particulièrement élevée.

A partir de la vingt cinquième heure, on remarque que les régions entoblastiques situées près de la zone « X » de MATHIAS DUVAL révèlent une activité des glycérophosphatases acides très élevée. L'entoblaste placé en dessous de cette zone, et de chaque côté de la région axiale de l'embryon est très fortement marqué par ces réactions phosphatasiques, les cellules ont un pôle au contact du vitellus sous-jacent et on peut décèler sans difficulté des particules intracytoplasmiques.

A partir de la trentième heure d'incubation, on observe une amorce de fermeture de cette zone entoblastique. On remarque que la partie dorsale du tube digestif ne montre aucune activité phosphatasique. Toutes les activités métaboliques sont concentrées dans les régions latérales et ventrales de l'entoblaste. On observe aussi que les deux lames entoblastiques voisines de la région cardiaque ont tendance à se rapprocher l'une de l'autre, constituant deux éperons latéraux qui se portent juste en dessous de la zone « X ». Dans ces éperons on voit des vaisseaux qui sont les veines omphalomésentériques.

A la quarantième heure, les réactions enzymatiques prennent une individualité particulière, elles se localisent



FIGURE 20.

Embryon de Poulet de 54 heures

Voie biliaire primitive unique avec une très importante activité enzymatique.

Remarquer la réaction localisée dans quelques éléments cellulaires de la partie antérieure du tube digestif. Cette région correspond au point de départ d'une ébauche pancréatique.

électivement dans les régions de l'ancienne zone « X » et de la partie entoblastique avoisinante.

A la quarante huitième heure, on voit le plein épanouissement du septum transversum, et à ce moment les réactions enzymatiques montrent leur maximum d'effet.

Ces réactions diastasiques excessivement importantes diminuent au fur et à mesure que le septum transversum disparaît, ou qu'il est envahi par les différentes formations (vaisseaux, formations hépatiques...). Toutefois, les activités diastasiques, si elles diminuent globalement, ont tendance à se localiser dans les parties périphériques du septum transversum qui s'appellent les villosités mésentériques. Et au même moment on constate une augmentation des activités enzymatiques dans les formations hépatiques.

Nous avons recherché la présence d'un « évocateur » spécifique (selon les idées chères à l'école anglaise) et en

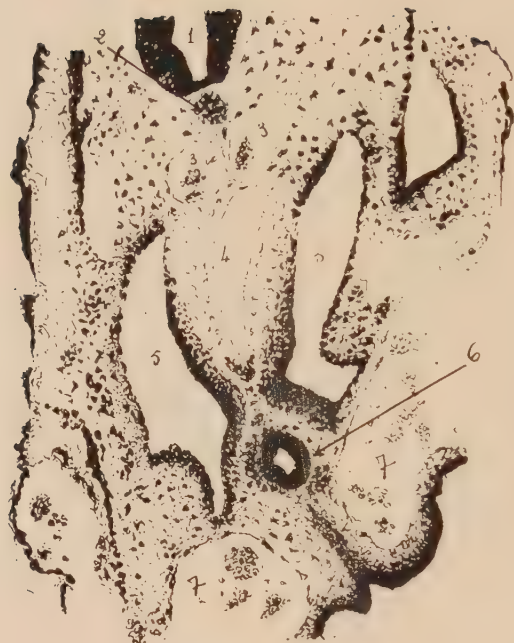


FIGURE 21.

Embryon de Poulet de 54 heures montrant une vue d'ensemble.

1 Tube nerveux — 2 chorde — 3 aorte —
4 tube digestif — 5 cœlome — 6 voie biliaire
primitive — 7 veine omphalo-mésentérique.

particulier nous avons voulu mettre en évidence l'importance du glycogène.

Grâce aux méthodes classiques de recherche des polysaccharides, j'ai pu constater la présence de substances glucidiques dans le septum transversum, mais je ne peux pas affirmer de façon formelle la présence de glycogène dans cette région. Les résultats enregistrés ne cadraient pas toujours avec la distribution générale de ce glucide.

Les peroxydases mises en évidence par la technique à la benzidine, montrent une réaction positive d'intensité moyenne. On ne trouve rien d'étonnant à la présence de ces diastases ici, puisqu'elles sont les témoins de toutes oxydations cellulaires.

En fait, le septum transversum montre une activité enzymatique importante au moment de sa formation. Cette activité diminue et disparaît avec le septum. On peut déjà penser à un passage de ces activités enzymatiques dans les

formations hépatiques. Je pense que cet organe constitue par son milieu spécial, le véritable « évocateur » de l'induction des cellules entoblastiques, qui donneront, après transformation, les voies biliaires primitives point de départ de la constitution morphologique du foie.

A mon avis, le septum transversum est un organe transitoire, qui disparaît chez l'adulte. Il apparaît comme une cloison entre le coelome abdominal et le coelome thoracique. Une partie de cet organe remplira effectivement ce rôle, mais, avant tout, le septum transversum, par son importance biochimique, joue un rôle de premier plan dans l'induction des cellules entoblastiques qui donneront naissance au foie.

LES VOIES BILIAIRES PRIMITIVES

La formation des voies biliaires primitives commence après la constitution du septum transversum, c'est-à-dire chez le Poulet vers la cinquantième heure d'incubation. C'est généralement à ce moment que les auteurs situent le début de la formation du foie, le septum transversum apparaissant d'ordinaire comme un support des voies biliaires et ne jouant aucun rôle dans le déterminisme de la glande hépatique.

C'est là le problème, car on ne peut à l'heure actuelle concevoir un développement du foie sans l'action essentielle du septum transversum, grâce aux propriétés biochimiques de ce milieu. Pour ces diverses raisons, il convient d'inclure une fois pour toute le septum transversum dans le processus global du développement du foie.

Le foie se développe à partir d'une ébauche unique au début qui est la voie biliaire primitive. Cette voie se constitue aux dépens de l'entoblaste intestinal de la région céphalique de l'intestin moyen, dans sa portion antérieure. Cet entoblaste est en relation directe avec l'entoblaste de la vésicule vitelline.

Sa structure révèle un épithélium entoblastique simple reposant sur un lit mésenchymateux très fin. Les cellules sont de forme prismatique haute, pourvues d'un cytoplasme abondant et très basophile et d'un noyau généralement allongé, situé dans la partie basale. On n'y distingue aucune différenciation cellulaire, pas de plateau strié, pas de bordure ciliée...

La voie biliaire montre à sa partie caudale un diverticule qui se forme ultérieurement, mais de morphologie semblable, qui donnera naissance à la vésicule cystique. Par la suite il y a régression, ou plutôt une transformation de la morphologie de cette dernière.

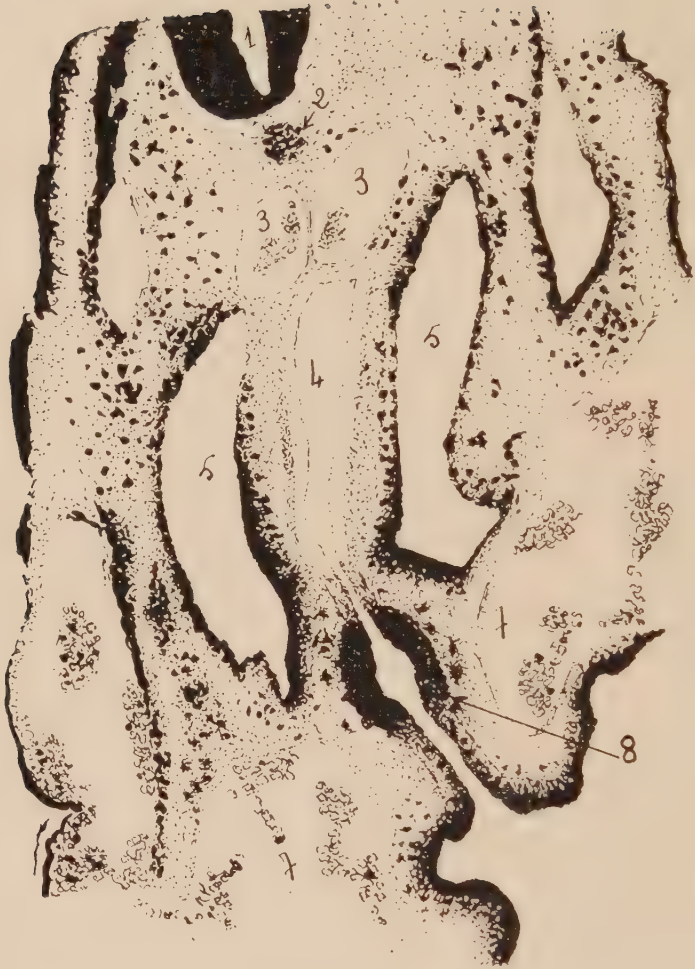


FIGURE 22.

Même embryon que précédemment (54 h.)

Cette coupe montre les rapports qui existent entre la voie biliaire primitive et le reste de l'entoderme digestif

Elle montre la sélectivité de la réaction au point de jonction du tube digestif et du reste de l'entoblaste (8).

La voie biliaire unique se multiplie en voies secondaires, qui pénètrent le septum transversum dans toute son étendue. Ces voies se transforment lentement. En effet ce n'est plus un épithélium de type entoblastique, mais des cellules de type glandulaire se sont substituées à cet épithélium, grâce à un phénomène de différenciation cellulaire dont le point

de départ se placerait dans l'action du septum transversum.

Les voies biliaires commence par s'allonger en très longs tubes dont la lumière s'amenuise au fur et à mesure que les tubes s'allongent avant de se terminer en cul de sac arrondi. Les cellules de ces tubes prennent la forme cubique. Chacune d'elle possède un cytoplasme très abondant et très basophile et, un noyau fortement chromatique. Ces noyaux sont souvent en division. Au début ces tubes ne sont pas ramifiés, mais par la suite ils présentent des anastomoses nombreuses. Une particularité des voies biliaires, c'est de se développer au contact de la veine omphalo-mésentérique droite. Ici, les rapports de ces formations avec la veine méritent d'être précisés. La veine omphalo-mésentérique droite se développe en même temps que les voies biliaires. Elle a tendance à envahir le septum transversum, elle refoule donc très légèrement les premières formations hépatiques, et ce faisant se place plus intimement à leur contact. La veine se situe ainsi presque à la partie médiane du septum et en face de l'intestin, ce qui a pour conséquence de faciliter le refoulement de la paroi de ce vaisseau par les ébauches cellulaires. Les voies biliaires secondaires se situent donc à la périphérie de la veine omphalo-mésentérique et tout contre l'endothélium vasculaire. Lorsqu'il y a très peu de voies biliaires, on reconnaît quelques cellules mésenchymateuses entre l'endothélium vasculaire et les voies biliaires, par la suite les cellules mésenchymateuses disparaissent. Les rapports entre cellules des voies biliaires et endothélium deviennent plus étroits. Les veines omphalo-mésentériques, ombilicales ou vitellines apportent dans cette région des substances nutritives venant de la vésicule ombilicale. Ces substances sont très riches en protides, lipides, glucides, enzymes et vitamines de toutes natures, que contient le jaune de l'œuf.

L'épithélium de la vésicule cystique se situe en dehors des zones les plus pourvues de ces substances alimentaires.

ACTIVITE ENZYMATIQUE DES VOIES BILIAIRES

L'étude des répartitions des activités enzymatiques des voies biliaires est particulièrement intéressante.

Au cours de la cinquantième heure d'incubation, la voie biliaire primitive présente une activité très forte. La phosphomonoestérase acide est localisée dans cette seule partie avec intensité, quelques cellules mésenchymateuses ont une réaction de moyenne importance, tout le reste

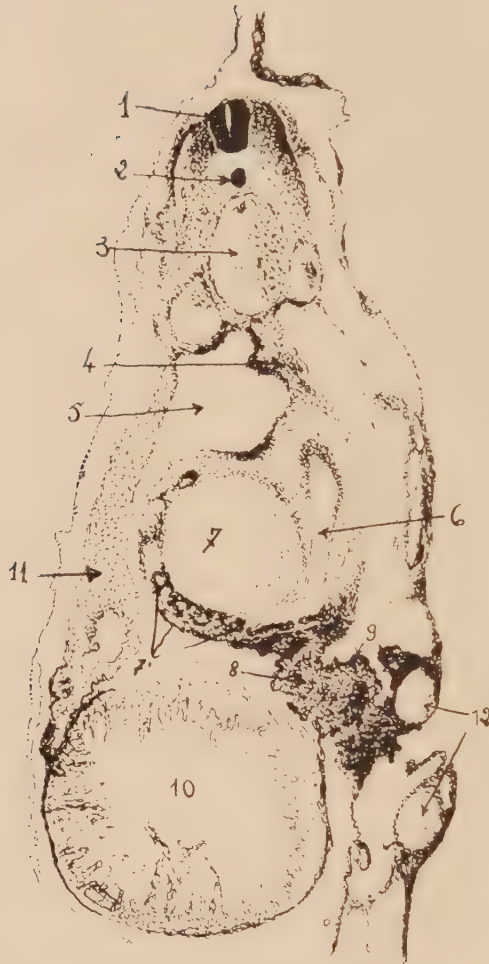


FIGURE 23.

Embryon de Poulet de 70 heures d'incubation
(phosphomonoestérase acide)

Topographie générale d'une coupe transversale
du corps de l'embryon de Poulet passant par
l'ébauche hépatique.

1 Tube médullaire — 2 Chorde dorsale —
3 Aorte — 4 Mésogastre — 5 Cavité coelomique
— 6 Tube digestif — 7 Veine omphalo-mésenté-
rique — 7' Formations glandulaires et Voies
biliaires — 8 Septum transversum — 9 Villosités
mésentériques — 10 Cœur (ventricule) — 11 Paroi
thoraco-abdominale — 12 Vaisseaux.

Observer l'importance des activités enzymati-
ques dans le tube médullaire, la chorde et la
région hépatique.



FIGURE 24.

Même figure que précédemment, montrant les détails de la région hépatique.

1 Voies biliaires primitives — 2 Formations cellulaires différenciées — 3 Région antérieure de l'intestin moyen au contact du septum transversum — 4 Septum transversum (réduit) présentant une forte activité enzymatique — 5 Zone postérieure de l'intestin avec une image d'activité enzymatique (bourgeon pancréatique dorsale) — 6 Réseau vasculaire — 7 Veine omphalo-mésentérique.

du septum transversum demeure très peu actif. Tout se passe donc comme si l'épithélium de la voie biliaire primitive absorbait en totalité les activités diastasiques, pour les concentrer seulement en lui-même. Ce premier fait doit être retenu à cause de son importance. Le septum transversum conserve néanmoins ses activités dans les parties de la splanchnopleure adjacente, et les villosités mésentériques.

Vers la soixantième heure d'incubation, les voies biliaires se sont multipliées, elles sont plus nombreuses et localisées autour de la veine omphalo-mésentérique droite. Le septum, qui a diminué de volume, a une réaction enzymatique décelée dans les régions périphériques. Les villosités mésentériques présentent une positivité diastasique remarquable.

Les cellules des voies biliaires et quelques tubes cellulaires qui en dépendent sont noirs, signe d'une bonne activité enzymatique. Donc durant cette période le septum transversum semble récupérer son potentiel, tandis que les cellules des voies biliaires et des tubes conservent leur activité enzymatique inchangée.

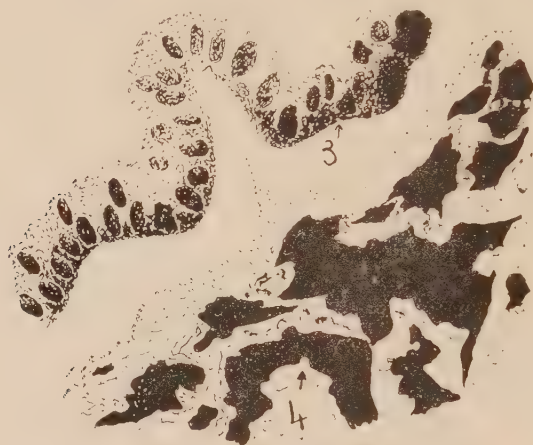


FIGURE 25.

Cette figure met en évidence les particularités d'activités enzymatiques dans l'épithélium du tube intestinal (3) placé au voisinage du septum transversum (4).

Après soixante dix heures d'incubation, le développement de ces différentes formations est très poussé ; les tubes cellulaires sont très nettement constitués. Les rapports qui s'établissent avec la veine omphalo-mésentérique sont plus importants, la glande adopte un aspect réticulé typique. Les activités enzymatiques semblent augmenter dans leur intensité, les cellules prennent une coloration de plus en plus noire, ce qui caractérise l'augmentation de la phosphatase acide « non spécifique ».

En résumé durant la période qui dure de la cinquantième heure à la soixante dixième heure d'incubation, la progression des réactions enzymatiques est particulièrement significative. Elle se caractérise par la disparition lente des activités dans le septum transversum et sa localisation et son augmentation dans les formations hépatiques naissantes. J'établis indubitablement un lien spécial entre ces deux faits, en pensant que le milieu du septum agit sur les cellules des voies biliaires primitives pour provoquer la

différenciation de ces cellules en cellules hépatiques définitives. C'est un fait nouveau sur lequel je dois particulièrement insister. Les variations enzymatiques du septum transversum et des formations hépatiques se font en sens inverse, comme si les activités passaient d'un lieu dans un autre. Mais je peux d'ores et déjà admettre que le passage de ces activités n'est pas un simple phénomène, et qu'il s'accompagne de ce fait capital qui est le changement du type cellulaire morphologique, conséquence de la différenciation. En un mot le septum transversum constituerait un milieu nécessaire et indispensable pour la formation du foie.

LES FORMATIONS GLANDULAIRES HEPATIQUES

A partir de la soixantième heure d'incubation, on assiste à la constitution progressive de travées cellulaires hépatiques. Au fur et à mesure que l'embryon grandit, on s'aperçoit que les régions distales des tubes cellulaires qui font suite aux voies biliaires, se multiplient abondamment, et perdent leur morphologie primitive.

Les voies biliaires présentent une lumière centrale, qui entourent des cellules épithéliales prismatiques. Cette lumière semble être occupée par un produit de sécrétion.

Les voies biliaires en se multipliant se modifient, se transformant en conduit cellulaires plus petits; les tubes cellulaires glandulaires dont j'ai déjà montré les rapports avec la veine omphalo-mésentérique.

Les derniers tubes glandulaires, tout en s'anastomosant abondamment, voient leur lumière devenir plus réduite.

Il se constitue des travées cellulaires très nombreuses richement anastomosées, le foie ainsi formé a un aspect réticulé.

L'étude enzymatique des cellules glandulaires montre des variations dignes d'intérêt. Selon l'âge de l'embryon, on peut noter des différences importantes.

A partir de la soixantième heure, les réactions sont très nettement localisées dans les voies biliaires secondaires et dans les cellules qui en dérivent. Les activités enzymatiques sont de moyenne importance. Le tissu mésenchymateux environnant présente une réaction beaucoup plus faible.

Au cours de la soixante dixième heure d'incubation, il semble que les activités se sélectionnent davantage, les réactions ne sont décelables que dans les formations hépatiques seulement, et dans les villosités mésentériques flottant dans le coelome.



FIGURE 26.

Embryon de Poulet de 116 heures d'incubation
(phosphatase acide)

Travées cellulaires établies en réseaux anastomosés. Aspect sinusoïdal des vaisseaux. Les activités enzymatiques sont importantes et localisées dans les cordons cellulaires.

A quatre vingt seize heures d'incubation, les activités enzymatiques présentent leur maximum d'intensité. Les réactions très importantes sont localisées dans les travées cellulaires. Cette même intensité se retrouve jusqu'au huitième jour d'incubation à sa valeur maxima. Puis les activités diminuent pour atteindre celle que l'on observe chez l'adulte.

Cette variation est un fait bien connu ; Florence Moog y a insisté en rapprochant ce fait de la différenciation enzymatique probable à ce moment. On verra par la suite ce qu'il convient d'en penser.

ETUDE PHOTOMETRIQUE DU SEPTUM TRANSVERSUM. DES VOIES BILIAIRES PRIMITIVES ET DES FORMATIONS GLANDULAIRES HEPATIQUES

Les variations enzymatiques que l'on observe au cours des cinq premiers jours de l'incubation de l'embryon de Poulet, présentent des caractères très importants, dont l'explication se trouve dans les phénomènes d'induction et de différenciation cellulaires. L'observation, de visu, de ces

variations est aisée, mais pour mieux se représenter leurs vraies valeurs, il convient de mesurer l'intensité des réactions diastasiques et de comparer les résultats obtenus en les portant sur un graphique.

Pour obtenir une étude graphique à peu près correcte, j'ai utilisé des moyens de travail qui méritent quelques explications. En effet je n'ai pas pu obtenir une valeur directe des activités enzymatiques. J'ai détourné le problème en évaluant « l'opacité » des réactions obtenues. Pour que les valeurs recueillies soient rigoureusement sûres, j'ai réclamé de toutes mes lectures de chiffres des conditions de réalisation identiques. Les mesures furent effectuées sur l'histophotomètre de LISON.

Mes résultats sont calculés en pourcentage « opacité », c'est-à-dire que plus les réactions enzymatiques sont fortes plus les valeurs obtenues sont élevées et se rapprochent de la valeur du noir le plus complet (les réactions diastasiques s'obtenant par précipitation du sulfure de plomb qui est noir).

L'étude graphique permet de reconnaître quatre périodes évolutives manifestes dans le développement du foie au cours des cinq premiers jours d'incubation.

— La première période intéresse un embryon de 45 heures d'incubation. Elle montre que l'activité enzymatique

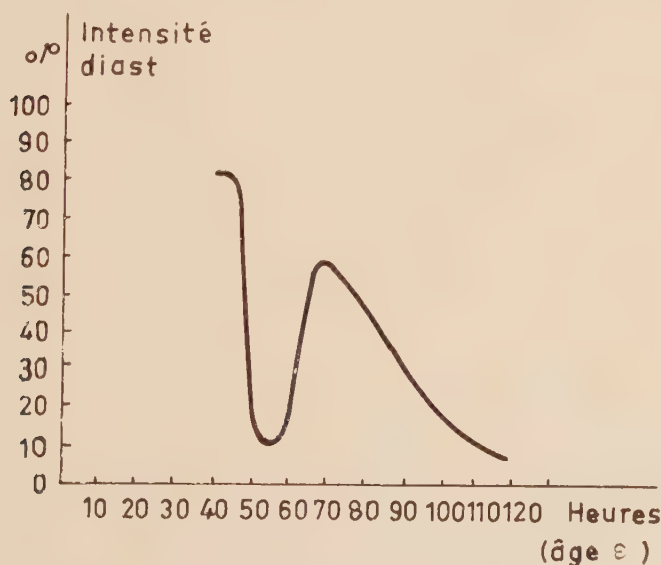


FIGURE 27

Activité du *septum transversum* en fonction de l'âge de l'embryon.

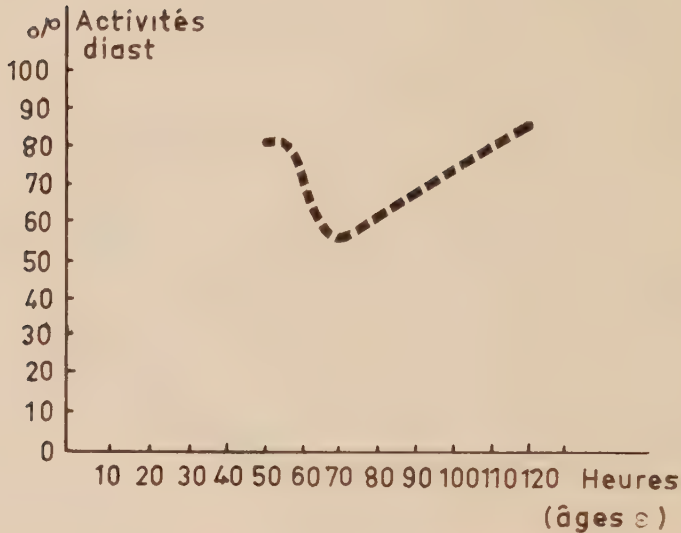


FIGURE 28

Activités enzymatiques des voies biliaires primitives et des formations glandulaires hépatiques.

du septum transversum est très forte, l'intensité des réactions montre une valeur de 80 % (plusieurs mesures ont été réalisées dans des points différents du septum transversum et sur plusieurs embryons).

— *La seconde période* se situe entre la 50^{me} et la 54^{me} heure d'incubation, à ce moment la voie biliaire primitive, s'est formée, et dans l'endoderme de cette voie on retrouve le maximum d'activité diastasique, ce qui se caractérise par le taux 80 %. Le septum transversum environnant a perdu de son intensité, les réactions tombent à 10 %.

— *Durant la troisième période*, qui se situe à la soixante dixième heure, les activités enzymatiques du septum transversum et des voies biliaires ont une valeur à peu près égale, s'équilibrant aux environs de 50 %. Il y a donc une diminution des réactions dans l'entoblaste des voies biliaires, et une augmentation des activités dans le septum. (Ce qui ne s'observe pas de visu).

— *La quatrième période* fait suite à cette dernière et continue jusqu'au huitième jour de l'incubation, montrant une activité enzymatique progressivement croissante jusqu'à ce que celle-ci ait atteint le taux de 70 % à 80 % normal chez l'adulte.

L'étude graphique met en évidence deux faits importants. A la 50^{me} heure dans le septum transversum il y a une diminution importante des activités diastasiques qui ne représentent que 10 %, tandis qu'à la 70^{me} heure on observe une augmentation impressionnante qui a la valeur de 80 %. Il semblerait que la phosphatase acide ait pénétré en totalité dans l'endoderme de la voie biliaire, démunissant le septum transversum de toute activité. Au fait, on se trouve en présence de phénomènes d'induction tels qu'ils sont définis par BRACHET.

Une quinzaine d'heures plus tard, on constate une égalité des activités enzymatiques du septum et des voies biliaires, le taux de celle-ci s'élève à 50 %. Il y a une diminution des réactions diastasiques dans les voies biliaires et une nette augmentation dans le septum transversum. Ce point de convergence des deux courbes d'activité enzymatique a une signification précise, puisque c'est à partir de ce moment que l'on retrouve des travées cellulaires hépatiques nettement constituées, c'est aussi à partir de ce point que les activités enzymatiques augmentent pour conserver leur même intensité jusque dans le foie définitivement formé. Ce point est aussi le sommet des activités du septum transversum durant la deuxième étape, elles diminueront ensuite progressivement, jusqu'à la disparition ou la transformation de ce septum transversum. Ce point répond à la différenciation de la cellule hépatique proprement dite.

Cette étude graphique présente l'avantage indubitable de mettre en évidence de façon concrète et précise les deux étapes que nous reconnaissons dans le développement du foie, période d'induction enzymatique et période de différenciation cellulaire.

L'induction enzymatique

Le problème de l'influence que des parties de l'œuf ou de l'embryon peuvent exercer sur d'autres ébauches, a attiré l'attention des investigateurs, surtout après les découvertes fondamentales de SPEMANN (1924) sur l'action exercée par la vésicule optique sur la formation du cristallin, chez les Amphibiens. Après les expériences d'EKMANN (1925), BRACHET (1931) dégagea la notion de « différenciation provoquée » par opposition à la différenciation spontanée. SPEMANN établit les principes de l'induction embryogénique et des centres organisateurs. L'organisateur est une région embryonnaire

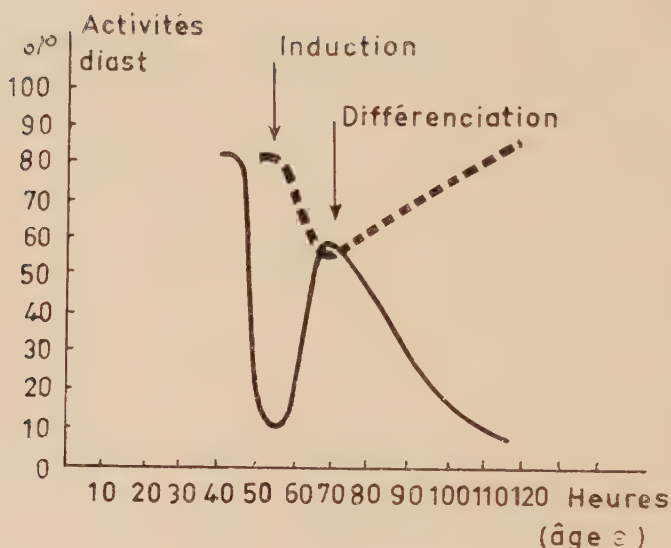


FIGURE 29

Ce graphique met en lumière l'importance du septum transversum, comme zone à métabolisme élevé, et lieu d'induction enzymatique. Entre l'induction et le début de la différenciation cellulaire, il y a un temps de latence, avec diminution des réactions enzymatiques dans les parties induites. Une nouvelle augmentation des activités diastasi-ques des zones inductrices conditionne enfin la différenciation des cellules hépatiques.

qui possède le pouvoir d'organiser d'autres régions en leur communiquant sa propre impulsion formatrice. De nombreuses expériences ont montré que le contact est nécessaire entre organisateur et région induite, ce qui a rendu vraisemblable l'hypothèse qu'il s'agit de substances chimiques qui passent du donneur au récepteur. On a essayé d'isoler ces substances, mais les expériences ont fait croire à la sécrétion d'une substance active, de nature inconnue, pour laquelle DALCQ a proposé le nom synthétique « d'organisine ».

Mais parler de substances chimiques c'est aussi parler des enchaînements qui peuvent intervenir au cours de réactions dont ces substances sont les agents. Ces réactions ne peuvent se dérouler sans l'action d'enzymes appropriées. Les enzymes que nous avons décelées dans le septum transversum agissent vraisemblablement sur les cellules entoblastiques en leur communiquant leur activité métabolique. Cette transmission des activités diastasiques s'est effectuée par un

passage en bloc de toute l'activité des enzymes dans l'épithélium de la voie biliaire primitive, et le reste du septum transversum demeure à ce moment avec une activité particulièrement atténuée.

Si l'induction doit se comprendre comme le passage de substances chimiques d'un lieu en un autre ou d'un milieu cellulaire en un autre milieu avant la différenciation de la cellule, je dois reconnaître avec force qu'il s'agit bien ici d'un phénomène de ce genre, lequel est à la base de la différenciation cellulaire hépatique.

Les cellules hépatiques sont connues pour leur très grand pouvoir métabolique, pour leur possibilité exceptionnelle de synthèse, il serait logique de prétendre que l'établissement de ses différentes fonctions se fait progressivement et en présence de substances inductrices.

Cette induction que nous révélons dans le septum transversum par l'activité enzymatique n'est sans doute pas « polyvalente » c'est-à-dire capable de pourvoir les cellules hépatiques de toute leur possibilité métabolique et synthétique, nous croyons plutôt qu'il s'agit, dans cette induction première, de créer une aptitude de la cellule en vue d'un fonctionnement qui pourra se sélectionner par d'autres impulsions inductrices donnant aux cellules leur pouvoir final dans le métabolisme général.

La différenciation cellulaire hépatique

Une cellule induite n'est pas une cellule différenciée. Entre le phénomène de l'induction et la différenciation cellulaire se situe un certain nombre d'étapes.

Le fait capital dans la différenciation cellulaire réside dans le changement des synthèses protéiques et accessoirement dans le métabolisme ; c'est le résultat de l'établissement de fonctions biochimiques relativement spécifiques et uniques dans les cellules. Les synthèses spécifiques sont l'ultime preuve de type cellulaire particulier. Il est très difficile de reconnaître tous les détails qui séparent la cellule non différenciée de la cellule différenciée, mais il est hors de doute que l'on puisse dire que tous les phénomènes déterminants de la différenciation se passent dans le protoplasme. Le protoplasme comprend le cytoplasme et le noyau de la cellule, l'action de ces constituants n'est pas compartimentée, au contraire il y a une interaction réciproque entre noyau et cytoplasme. L'un est connu pour sa grande richesse en ADN, qui est considéré comme la source de toute synthèse

et comme transporteur des caractères biochimiques héréditaires de cellule à cellule et d'organisme à organisme. Le cytoplasme sépare le noyau du milieu extérieur qui entoure la cellule ; ce milieu n'est pas sans action directe sur le cytoplasme et des échanges sont fréquents. Le fait pour une cellule d'être soumise continuellement à l'action d'une substance provoque au sein de cette cellule des transformations dont l'importance est très grande.

Je pense que la très forte activité métabolique que l'on décèle dans le septum transversum est à la base des transformations qui se font dans les voies biliaires primitives. Les actions enzymatiques que j'ai mises en évidence montrent la manifestation de phénomènes biochimiques indubitables. La présence des glycérophosphatases acides non spécifiques semble un moyen commode pour suivre la différenciation des cellules hépatiques.

CHAPITRE VI

RÉPARTITION DE LA PHOSPHOMONOESTERASE ALCALINE DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE ET DE LA SUCCINO-DESHYDROGENASE

Les descriptions précédentes des sites d'activité enzymatique sont le témoignage des réactions phosphomonoestérasiques acides non spécifiques. Les autres diastases mises en évidence répondent de façon analogue dans l'ensemble. Des nuances peu importantes sont à relever, elles sont dûes essentiellement aux caractères des localisations cytologiques ordinaires des enzymes.

La phosphomonoestérase alcaline

La répartition des activités enzymatiques est en général identique à celle de la phosphomonoestérase acide dans l'embryon. On retrouve les mêmes localisations régionales, mais les lieux d'activité cellulaire changent. En effet ces activités sont surtout localisées dans les noyaux des cellules et dans quelques granulations intracytoplasmiques.

A la vingt cinquième heure d'incubation, on reconnaît une répartition généralement située dans la gouttière nerveuse, la corde dorsale, l'ectoblaste, le mésoblaste et l'entoblaste.

Au cours de la quarante cinquième heure, le septum transversum présente une activité évidente, mais d'intensité moins forte que celle de la phosphatase acide. On décèle l'enzyme dans toutes les formations présentes dans cette région. S'il faut attribuer un rôle à la phosphomonoestérase alcaline dans la synthèse des nucléoprotéines, comme le

fait CHEVREMONT (1953), la localisation de cette diastase n'a rien d'étonnant ici, bien au contraire, elle appuie ma conception sur la signification que je donne au milieu biochimique du septum transversum.

Au moment de la formation des voies biliaires primitives, (50 h à 60 h d'incubation) les réactions mises en évidence sont relativement faibles, et ne présentent nullement l'intensité de la phosphatase acide. Chez l'adulte, la localisation de la phosphatase alcaline se voit dans les canalicules biliaires, les capillaires radiés du foie, et surtout dans les noyaux des cellules. Ici, chez l'embryon, à l'exception des noyaux cellulaires, les autres formations n'existent pas encore. Les localisations cellulaires, identiques à celles des cellules hépatiques adultes, font penser que ces dernières se forment à partir des voies biliaires primitives, qu'il ne faudrait nullement confondre avec les voies biliaires du foie adulte.

A partir de la quatre vingt dixième heure d'incubation, on observe une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline, qui atteint sa valeur maxima au huitième jour de l'incubation (ce fait est aussi signalé par F. Moog, 1944).

On peut dire que l'activité de la phosphomonoestérase alcaline, est peu importante dans les premières heures du développement de l'embryon de Poulet, mais à partir du quatrième jour d'incubation, il y a une augmentation nette de l'intensité des réactions. Ce fait est généralement en rapport avec l'apparition des canalicules biliaires.

L'anhydrase carbonique

La distribution de cette enzyme n'a montré aucune particularité. Les réactions diastasiques sont de moyenne intensité, rappelant celle de la phosphatase alcaline. L'anhydrase carbonique est présente dans toutes les régions embryonnaires.

J'ai recherché cette enzyme dans le but de savoir si elle n'avait pas une signification spéciale dans le septum transversum. Mais devant la pauvreté des renseignements recueillis, je n'ai rien pu conclure.

La succino-déshydrogénase

La succino-déshydrogénase entre dans le cycle tricarboxylique de KREBS. La présence de cette enzyme est un fait indéniable. Sa distribution rappelle celle de la phosphatase alcaline, son activité est de moyenne importance. La répartition diastasique n'a présenté aucune particularité, bien que je pensais trouver des manifestations spéciales de cette enzyme, étant donné son rôle, dans le métabolisme général.

Ces trois enzymes, la phosphatase alcaline, l'anhydrase carbonique, la succino-déshydrogénase, se sont manifestées par leur présence, mais elles n'ont montré aucune particularité ni dans leur localisation cellulaire, ni dans leur répartition régionale. D'une façon générale chez l'embryon de Poulet, l'intensité des réactions est nettement inférieure à celle que l'on retrouve chez l'adulte.

La phosphatase acide au contraire a une activité très importante et elle est supérieure à celle de l'adulte, tout au moins durant certaines périodes évolutives de l'embryon.

CHAPITRE VII

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

J'ai étudié le développement de l'embryon de Poulet durant les premières heures d'incubation, en me servant des techniques histo-chimiques pour effectuer mes recherches ; ces techniques m'ont permis de déceler des activités enzymatiques dans le septum transversum, dans la voie biliaire primitive, dans les voies biliaires secondaires et dans les formations glandulaires hépatiques.

Le foie naît comme on le sait d'un diverticule creux, situé à la face ventrale de l'intestin moyen, en arrière d'une région mésoblastique proche du tube cardiaque primitif. Cette région constitue le *septum transversum*.

Le diverticule, d'abord unique, se divise en deux parties. L'une donnera la voie biliaire primitive, l'autre formera la vésicule cystique, le conduit originel devenant le canal cholédoque.

La voie biliaire primitive se développe dans le *septum transversum* richement vascularisé, en donnant naissance aux voies biliaires secondaires, plus petites. Ces dernières, après transformation de leurs parties distales constitueront les tubes glandulaires hépatiques pourvus d'une lumière encore plus réduite que celle des voies biliaires secondaires. Ces tubes, tout en proliférant, s'anastomosent abondamment avec les tubes voisins. Au fur et à mesure que les anastomoses se forment, l'endothélium de la veine omphalo-mésentérique droite se trouve de plus en plus refoulé de façon irrégulière dans la lumière du vaisseau par les travées cellulaires qui ont fait suite aux tubes glandulaires. La vitesse du sang circulant est ainsi de plus en plus ralentie, et ce dernier peut demeurer plus longtemps au contact des cellules, ce qui facilite les échanges entre les cellules hépatiques et le sang.

En se transformant ainsi, les voies biliaires sont à l'origine des cellules hépatiques, expliquant ainsi pourquoi il existe une liaison intime entre elles et le parenchyme hépatique.

Mes recherches m'ont permis de mettre en relief deux périodes bien précises du développement du foie, qui se distinguent essentiellement par l'activité enzymatique.

L'une de ces périodes était déjà très bien connue des morphologistes. C'est celle qui débute au moment de la constitution de la voie biliaire primitive et qui se poursuit par l'organisation cellulaire du foie.

L'autre période était pour ainsi dire inconnue; son importance relève du domaine de l'histochimie, et du fait de l'absence de toute cellule hépatique. On ne pouvait présumer de son rôle dans la formation du foie. C'est la période de constitution du *septum transversum* et de son milieu biochimique tout à fait spécial pour l'induction des cellules entoblastiques de l'intestin moyen.

J'ai suivi la formation du *septum transversum* et sa destinée. A mon avis, c'est un organe transitoire, qui disparaît par transformation chez l'adulte. Il apparaît comme une cloison entre le coelome abdominal et le coelome thoracique. Une partie de cet organe remplira effectivement ce rôle, mais, avant tout, le *septum transversum*, par son importance biochimique, est « l'organisateur » des cellules entoblastiques qui donneront naissance au foie. Les activités enzymatiques se localisent dans les cellules hépatiques adultes avec une certaine intensité.

J'ai pu constater que les réactions diastasiques variaient selon l'âge de l'embryon et selon les régions considérées, ces variations étant approximativement les mêmes pour les différentes enzymes considérées.

J'ai remarqué que si le taux d'activité diastasique est minimum pour le *septum transversum* à la cinquantième heure d'incubation, il était maximum pour la voie biliaire primitive. A la soixante dixième heure, il y a égalité des taux d'activité des voies biliaires secondaires, des cellules hépatiques formées et du *septum transversum*. C'est durant cette période que les cellules hépatiques se différencient.

Peu à peu les taux d'activité augmentent jusqu'au huitième jour d'incubation, où ils conservent leur valeur maxima (80 %) pour se porter définitivement au taux retrouvé chez l'adulte.

Ainsi donc le *septum transversum* apparaît comme une formation transitoire d'une importance exceptionnelle. Au

moment de sa formation l'activité enzymatique est particulièrement élevée, cette activité diminue au fur et à mesure que le foie se constitue.

Je pense donc, que le *septum transversum* est l'inducteur spécifique des voies biliaires primitives, cette induction étant à la base de la différenciation des cellules des voies biliaires en cellules hépatiques.

Je pense, que les phénomènes observés au cours de mes travaux sur l'embryon de Poulet, ne sont pas propres à cette catégorie d'animaux, mais doivent se retrouver vraisemblablement chez les Mammifères.

BIBLIOGRAPHIE

... J'ai classé la bibliographie selon le plan que j'ai suivi pour mon exposé. Je distingue trois parties :

- I Généralités sur le foie
- II — les techniques histo-enzymatiques
- III — l'induction et la différenciation cellulaires.

Je ne rapporterai pas tous les innombrables travaux que l'on peut trouver dans ces trois groupes. Je retiendrai ceux qui seront les plus significatifs pour mon travail.

Dans la deuxième partie de cette bibliographie, je rappèlerai quelques travaux qui paraîtront nombreux, mais c'est une façon de rendre hommage à des chercheurs qui ont facilité ma tâche, en donnant des techniques et des idées qui m'ont beaucoup servi. Enfin dans une petite rubrique placée à la fin, je rappèlerai aussi mes travaux personnels.

Généralités sur le foie

Livres consultés

- BRACHET (A.). Traité d'Embryologie des Vertébrés, revue et complétée par A. Dalcq et P. Gérard, Masson et C^o édition. Paris 1935
- BRACHET (J.). Embryologie chimique, Masson et C^o édition. Paris 1944.
- BRANCA (A.) et VERNE (J.). Précis d'Histologie, Masson et C^o édit. Paris, 1947.
- BULLIARD (H.) et CHAMPY (Ch.). Abrégé d'Histologie, Masson et C^o édit. Paris, 1940.
- CHEVREMONT (H.). Notions de cytologie et histologie. Desoer, Liège. 1956
- COWDRY (E.V.). Général Cytology. The University of Chicago Press. Chicago. Illinois 1925
- DUBREUIL (G.). Embryologie humaine. Vigot frères, édit. Paris 3^{me} édit 1947.
- DUBREUIL (G.) et BAUDRIMONT (A.). Manuel théorique et pratique d'histologie. Vigot frères édit. Paris, 1950.
- DA COSTA (C.). Eléments d'embryologie. Masson et C^o édit. Paris, 1948.
- FREY (H.). Histologie et histochimie, traduite de l'allemand sur la cinquième édition par P. Spillmann. Librairie F. Savy, Paris, 1877.

- GIROUD (A.) et LELIEVRE (A.). *Eléments d'Embryologie*. Librairie E. Le François. Paris 1957.
- HAM (A.W.) and THOMAS (S.). *Histology* Edit, Lippincott C°, Philadelphia, Montréal, 1961.
- HAMILTON (W.J.), BOYD (J.D.) and MOSSMAN (H.W.). *Human embryology* Edit Heffer and sons limited Cambridge, 1959.
- HIS (W.). *Anatomie menschlicher embryonen*. III Zur geschichte der organe. Vogel, Leipzig 1885.
- MALL (F.P.). Coelom and diaphragm. in *Manual of human embryology*. Edit Lippincott, Philadelphie, and London, 1910.
- MAXIMOW (A.) and BLOOM (W.). *A text book of histology*, édit Saunders C°, Philadelphie and London, 1957.
- MATHIAS DUVAL. *Atlas d'embryologie*, Edit G. Masson, Paris, 1889.
- PRENANT (A.), BOUIN (P.) et MAILLARD (L.). *Traité d'Histologie Tome II*, Masson et C°, Paris 1911.
- STEFANELLI (A.). *Istologia ed Embriologia*, Edizioni dell'Ateneo Roma 1959.
- TURCHINI (J.). *Aide-mémoire d'embryologie*, 2^{me} édition, G. Doin édit et C°, Paris 1962.
- VERNE (J.). *Précis d'histologie*, Masson et C° édit, Paris 1960.
- VIALLETON (L.). *Eléments de Morphologie des vertébrés*, O. Doin et Fils, Paris 1911.
- VIALLETON (L.). *Précis de technique histologique et embryologique*. Collection Testut 1909. Paris.
- WITSCHI (E.). *Development of Vertebrates*, Saunders C°, Philadelphia, London 1956.

Quelques références spéciales à l'étude biochimique de l'embryon de Poulet

- RAWLES (M.E.) and KARNOFSKY (D.A.). «The chick embryo in biological research». *Annals of New-York. Academy of Sciences*. Vol 55, Article 2, pp. 37-344. Aug 8, 1952. Edit Ray Waldo Miner.
- ALBAUM (H.) et WORLEY (L.) 1942. The development of cytochrome oxidase in the chick embryo. *J. Biol. Chem.* 144, 697.
- ALBAUM (H.) NOVIKOFF (A.) et OGUR (M.), 1946. The development of the cytochrome oxidase and succinoxidase system in the chick embryo. *J. Biol. Chem.* 165, 125.
- BALFOUR (F.M.), 1881. *A treatise on Comparative Embryology*. London
- BERNSTEIN (M.H.), 1950. Ribonucleinase activity in the developing chick embryo. *Thesis, Washington University*.
- BRACHET (J.) et NEEDHAM (J.), 1935. L'activité de l'arginase pendant le développement de l'embryon du Poulet. *C.R. Acad. Sci.* 118, 840.
- BUCHANAN (J.), 1926. Regional difference in rate of oxidations in the chick blastoderm as shown by susceptibility to hydrocyanic acid. *J. Exp. Zool.* 45, 141.
- DALTON (A.J.), 1937. The fonctionnal differentiation of hepatic cells of the chick embryo. *Anat. Rec.* 68, 393.
- DUMM (M.E.) et LEVY (M.), 1949. Chemistry of the chick embryo VII. The accumulation of solids, nitrogen, lipids and dipeptidase by the gizzard and liver of the chick embryo. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 33, 373.
- GAERTNER (R.), 1949. Development of the posterior trunk and tail of the chick embryo. *J. Exp. Zool.*, 111, 157.

- GALLERA (J.), 1948. Sur la distribution des substances basophiles cytoplasmiques dans le blastoderme de la Poule. *Rev. Suisse Zool.*, 55, 243.
- HYMAN (L.), 1927. The metabolic gradients of vertebrate embryos. III The Chick. *Biol. Bull.*, 52, 1.
- KLEINZELLER (A.) et WERNER (H.), 1938. Catalase activity during the development of the chick embryo. *Bioch. Journ.*, 33, 291.
- MC KECHAN (M.S.), 1951. Cytological aspects of embryonic induction in the chick. *J. Exp. Zool.*, 117, 31.
- MEYERHOF (O.) et PERDIGON (E.) 1940. Sur la glycolyse phosphorylante des tissus animaux. *Enzymologia*, 8, 353.
- MILLER (I.) 1941. Janus green reduction by localized areas of the developing chick, demonstrated by time-lapse microcinematographs in color. *Anat. Rec.*, 79, supp. p. 47.
- MURRAY (H.A.) 1926. Physiological ontogeny. A chicken embryos. XII The metabolism as a function of age. *J. Gen. Physiol.* 10, 337.
- NEEDHAM (J.) 1932 a. On the true metabolic rate of the chick embryo and the respiration of its membranes. *Proc. Roy. Soc. London B.* 110, 46.
- NOVIKOFF (A.) POTTER (V.) et LE PAGE (G.), 1948. phosphorylating glycolysis in the early chick embryo. *J. Biol. Chem.*, 173, 239.
- PHILIPS (F.), 1941. The oxygen consumption of the early chick embryo at various stages of development. *J. Exp. Zool.* 86, 257.
- PHILIPS (F.) 1942. Comparison of the respiratory rates of different regions of the chick blastoderm during early stages of development. *J. Exp. Zool.*, 90, 83.
- RAWLES (M.), 1936. A study in the localisation of organ-forming axes in the chick blastoderm of the head-process stage. *J. Exp. Zool.*, 72, 271.
- RULON (O.), 1935. Differential reduction of Janus green during development of the chick. *Protoplasma*, 24, 346.
- SPIEGELMANN (S.), 1945. Physiological competition as a regulatory mechanism in morphogenesis. *Quart. Rev. Biol.*, 20, 121.
- SPRAT (N.), 1940. An in vitro analysis of the organisation of the eye-forming area in early chick blastoderm. *J. Exp. Zool.*, 85, 171.
- SPRATT (N.) Jr., 1947 a. Regression and shortening of the primitive streak in the explanted chick blastoderm. *J. Exp. Zool.* 104, 69.
- SPRATT (N.), Jr, 1947 b. Development in vitro of the early chick blastoderm explanted on yolk and albumen extract saline agar substrat. *J. Exp. Zool.*, 106, 345.
- SPRATT (N.) Jr, 1948 a. Development of the early chick blastoderm on synthetic media. *J. Exp. Zool.*, 107, 39.
- SPRATT (N.) Jr, 1949 b. Nutritional requisiments of the early chick embryo. III The metabolic basis of morphogenesis and differentiation as revealed by the use of inhibitors. *Anat. Rec.*, 105, 117.
- STUMPF (P.) 1497. Phosphorylated carbohydrate compounds in developing chick embryo. *Fed. Proc.*, 6, 296.
- WENGER (B.S.), 1951. Cholinesterase activity in different spinal cord levels of the chick embryo. *Fed. Proc.*, 10, 268.
- WILLIER (B.) et RAWLES (M.) 1935. Organ-forming areas in the early chick blastoderm. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 32, 1293

PHOSPHOMONOESTERASES

- ALLARD (C.), DE LA MIRANDE (C.), FARIA (H.) et CANTERO (A.). Intracellular distribution of phosphomonoesterases in rat liver homogenate. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 1954, 32 : 383-394.
- ARVY (L.). Les techniques actuelles d'histo-enzymologie. *Biol. Méd. Fr.* 1957, 46/2, (141-238).
- ARVY (L.). Contribution à l'histo-enzymologie du foie. *I et II. Arch. Mal. App. Diges. Fr.*, 1959, I : 48/6 (609-645). II : 48/7-8 (763-797).
- BRACHET (J.). La répartition de quelques enzymes (arginase, ribonucléase, phosphatase alcaline) entre le noyau et le cytoplasma de l'oocyte. *Enzymologia*, 1945, 40, 336.
- BRACHET (J.). Localisation de la phosphatase alcaline pendant le développement des Batraciens. *Experimental*, 1946, 2, 143.
- BRACHET (J.) et JEENER (R.). Recherches sur le rôle de la phosphatase alcaline des noyaux. *Bioch. et Bioph. Acta*, 1948, 2, 423.
- BRADFELD (J.R.G.). Acid phosphatase in invertebrates sites as protein secretion. *Nature*, 1946, 157 : 876-877.
- BRADFELD (J.R.G.). The localization of enzymes in cells. *Biol. Rev.* 1950, 25, 113.
- BOURNE (G.). The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1943, 32, 1.
- BOURNE (G.H.). A histochemical study of the specificity of phosphatases. *Broch. J.*, 1954, 56, proc. XXI.
- CAPPELIN (M.). Une technique pour le dosage cytochimique des phosphatases. *Bull. d'histol. appl.* 1947, 24, 155.
- CATAYEE (G.). Recherches histo-enzymologiques dans le foie normal et en dégénérescence graisseuse chez l'enfant. *Thèse de médecine* Montpellier. n° 73, 1958.
- CHEVREMONT (M.) et FIRKET (M.). Phosphatase alcaline dans les cellules cultivées in vitro. *C.R. Soc. Biol.* 1949, 143, 731.
- CHEVREMONT (P.M.) et FIRKET (H.). La phosphatase alcaline du noyau ; son rôle dans la mitose. *Bull. Acad. royale de Méd. Bel.*, VI^{me} série, 1953, XVIII, 48.
- DANIELLI (J.F.). A critical study of techniques for determining the cytochemical position of alkaline phosphatase. *J. Exp. Biol.* 1946, 22, 110.
- DANIELLI (J.). Phosphatases and other enzymes considered in relation to active transport and the functions of fibrous proteins structures. *Proc. Roy. Soc., G.-B.*, 1954, 142 (137 B).
- DEANE (H.W.) et DEMPSEY (E.W.). The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and other epithelial cells. *Anat. Rec.*, 1945, 93 : 401-417.
- DEANE (H.W.). A cytochemical survey of phosphatases in mammalian liver, pancreas and salivary glands. *Am. J. Anat.*, 1947, 80, 321.
- DE DUVE (C.), PRESSMAN (B.C.), GIANETTO (R.), WATTIAUX (R.), APPELMANS (F.). Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in Rat liver tissue. *Biochem. J., G.-B.*, 1955, 60/4 : 604-617.
- EMERY (Jr A.J.), DOUNCE (A.L.). Intracellular distribution of alkaline phosphatase in Rat liver cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, U.S.A., 1955, 1/4 : 315-330.

- ERANKO (O.). Histochemical evidence of the presence of acid-phosphatase positive and-negative cell islets in the adrenal medulla of the rat. *Nature*, 1951, 168 : 250-251.
- ESSNER (E.), NOVIKOFF (A.B.). L'activité de la phosphatase acide dans les lysosomes hépatiques : la démonstration par le microscope électronique. *Premier Congrès internat. Histochem. Fr.*, 1960. Résumé, Rapports. Pergamon Press, London, 1960, 1 vol. (126-127).
- FEIGIN (I.) and WOLF (A.). The alkaline phosphomonoesterase of cell nuclei : activation by 0. 16 M Magnesium. *J. Histochem. Cytochem.* 1957, 5 : 53-64.
- FIRKET (H.). Critique expérimentale de la mise en évidence de phosphatase alcaline dans les noyaux. *Bull. de Microsc.*, 1952, 2, 57.
- FLEXNER (J.B.), GREENBLATT (C.L.), COOPERBAND (S.R.) and FLEXNER (L.B.). Biochemical and physiological differentiation during morphogenesis. XIX. Alkaline phosphatase and aldolase activities in the developing cerebral cortex and liver of the fetal guinea pig. *Harvey Lectures*, 1951-1952, XLVII, 156.
- FREIMAN (D.G.). Metal activation of alkaline phosphatase and 5-nucleotidase. *Labo. Invest.* 1956, 5 : 338-347.
- GOMORI (G.). Distribution of acid phosphatase in the tissue under normal and under pathologic conditions. *Arch. Path.*, 1941, 32 : 189-199.
- GOMORI (G.). The study of enzymes in tissue sections. *Amer. J. Clin. Path.*, 1946, 16, 347.
- GOMORI (G.). Histochemical specificity of phosphatases. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1949, 70, 7.
- GOMORI (G.). An improved histochemical technic for acid phosphatase. *Stain Technol.*, 1950, 25, 81.
- GOMORI (G.). Alkaline phosphatase of cell nuclei. *J. Labor. a. Clin. Med.*, 1951, 37, 526.
- GROGG (G.) et PEARSE (A.G.E.). A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase, with a description of an azo-dye method. *J. Path. and Bact.*, 1952, 64 : 627-636.
- HAMURO (Y.). Histochemical studies on glycogen and certain enzymes in the recovery of the brain injuries. II. Histochemical studies on certain enzymes (phosphatases, succinic deshydrogenase, cytochrome oxidase, 5-nucleotidase and phosphorylase) in the recovery of brain injuries. *Arch. Histo. Jap.* 1957, 13 : 69-100.
- HOLT (S.J.). A new approach to the cytochemical localization of enzymes. *Proc. R. Soc.*, 1954, B, 142, 160.
- HOROWITZ (N.H.). Histochemical study of phosphatase and glycogen in fetal heads. *J. Dent. Res.*, 1942, 6, 519.
- JEENER (R.). Acides nucléiques et phosphatases au cours des phénomènes de croissance provoqués par l'oestradiol et la prolactine. *Biochem. Biophys. Acta.* 1948, 2 : 439-453.
- JUNQUEIRA (L.C.U.). Phosphomonoestérase content and localization in the meso and metanephros of the Chick embryo. *Anat. Rec.*, 1951, 109, 374.
- JUNQUEIRA (L.C.U.). Phosphomonoesterase content and localization in the meso and metanephros of the Chick embryo. *Quart. J. Microsc. Sc.*, 1952, 93, 247.
- KABAT (E.A.) and FURTH (J.). A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *Am. J. Path.*, 1941, 17, 303.
- KROON (D.B.). Phosphatase and the formation of protein-carbohydrate complex. *Acta Anat.*, 1952, 15, 317.

- KRUGELIS (E.J.). Alkaline phosphatase in early development of Amphibians. *Biol. Bull.*, 1947, 93, 215.
- KRUGELIS (E.J.). Properties and changes of alkaline phosphatase activity during Amphibians development. *C.R. Trav. Carlsberg Lab.*, 1950, 27, 273.
- KURATA (Y.) and MAEDA (S.). Histochemical demonstration of pyrophosphatase. *Stain Techn.* 1956, 31 : 13-16.
- LEDUC (E.H.) and WISLOCKI (G.B.). The histochemical localization of acid and alkaline phosphatases, non-specific esterase and succinic dehydrogenase in the structures comprising the hematoencephalic barrier of the Rat. *J. Comp. Neurol.*, 1952, 97, 241.
- LINDERSTROM-LANG (K.) Distribution of enzymes in tissue and cell. *Harvey lectures*, 1939, série 34, 214.
- LISON (L.). La recherche histochimique des phosphatases. Etude critique. *Bull. histol. appl.*, 1948, 25/2, 23-41.
- MACARY (J.). Recherches histochimiques et histophysiologiques sur le foie humain normal et pathologique prélevé par ponction-biopsie. *Biol. Méd.*, 1954, 43, 345-414.
- MANHEIMER (L.H.) and SELIGNAN (A.M.). Improvement in the method for the histochemical demonstration of alkaline phosphatase and its use in a study of normal and neoplastic tissues. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1948, 9, 181.
- MC ALPINE (R.J.). Alkaline glycerophosphatase in the developing thyroïd, parathyroid, and thymus of the albino rat. *Am. J. Anat.* 1956, 96 : 191-228.
- MENTEN (M.L.), JUNGLE (J.) and GREEN (M.H.). A coupling histochemical azo dye test for alkaline phosphatase in the Kidney. *J. Biol. Chem.*, 1944, 153, 471.
- MEYERHOF (O.) et GREEN (H.). Synthetic action of Phosphatases I. Equilibria of biological esters. *J. Biol. Chem.* 1949, 178 : 655-667.
- MOOG (F.). Localization of alkaline and acid phosphatase in the early embryogenesis of the Chick. *Biol. Bull.*, 1944, 86, 51.
- MOOG (F.). The physiological significance of the phosphomonoesterase. *Biol. Rev.*, 1946, 21, 41.
- MOOG (F.). The differentiation of enzymes in relation to the functional activities of the developing embryo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1952, 55, 57.
- NACHLAS (M.M.), PRINN (W.), SELIGMANN (A.M.). Quantitative estimation of lyo and desmoenzymes in tissue sections with and without fixation. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, U.S.A. 1956, 2/5, 487-502.
- NOVIKOFF (A.B.). Histochemical demonstration of nuclear enzymes. *Exp. Cell Res.*, suppl. 2, 1952, 123.
- PASQUALINO (A.). Ricerca istochimica delle fosfatasi nel polmone e nel fegato di ratti inoculati endovena con cell di tumore di Walker. *Riv. Istochim. norm. pat.* 1956, 2 : 295-314.
- PEARSE (A.G.P.). Azodye methods in enzyme histochemistry. *Cytology*, 1954, 3, 329.
- PRATT (O.E.). The proportion of phosphatase activity demonstrable in brain by histological techniques. *Biochem. J.* 1953 55 : 140-145.
- ROSSI (F.), PRESCETTO (G.) e REALE (E.). Recherches sur la localisation de la phosphatase acide pendant le développement de l'homme. *C.R. Assoc. Anat.*, 1952, 39^{me} Réunion, Clermont-Ferrand, 744.
- ROSSI (F.), PRESCETTO (G.) e REALE (E.). Histochimie enzymatique pendant l'organogenèse et la différenciation embryonnaire chez l'homme. Rapport au 41^{me} congrès de l'Association des Anatomistes. *C.R. Assoc. Anat.* 1954, 83 : 1-100.

- SELIGMAN (A.M.) and MANHEIMER (L.H.). A new method for the histochemical demonstration of acid phosphatase. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1949, 9, 427.
- SELIGMAN (A.M.), CHAUNCEY (H.H.) et NACHLAS (M.M.). Effect of formalin fixation on activity of five enzymes of Rat liver. *Stain Technol.*, 1951, 26 : 19-23.
- SMITH (W.K.). The results of application of the « acid phosphatase » method to nervous tissue after formalin fixation. *Anat. Rec.*, 1948, 102 : 523-532.
- SPIEGELMANN (S.). Differentiation as the controlled production of unique enzymatic patterns. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 1948, 2, 286.
- TAKAMATSU (H.). Histologische und biochemische studien über die Phosphatase : I. Histochemische Untersuchungsmethodik der Phosphatase und deren Verteilung in verschiedenen organen und Geweben. *Tr. Jap. Path. Soc.*, 1939, 29, 492.
- TAMADA (Y.). Histochemical studies of the Liver of rats during post-natal growth. III Alkaline and acid phosphatases, Glucose-6 phosphatase and phosphorylase. *Arch. Hist. Jap.* 1958, 14, 243-264.
- TURCHINI (J.P.). Caractères cytochimiques du Foie et de la vésicule biliaire de Rhinolophes en estivation et hibernation et du foie de Souris normales ou exposées au froid. Thèse de Doctorat ès-Sciences. 26 février 1962. *Faculté de Sciences de Montpellier*, 152 p. N° 249.
- VERNE (J.). La cytochimie des phosphatases alcalines chez les vertébrés. *Ann. Biol.* 1953, 29, 517-537.
- VERNE (J.) et WEGMANN (R.). Les phosphatases alcalines. Problèmes histochimiques de leurs localisations et de leur signification. *Sem. Hôp. Pathol. Biol. Fr.* 1959, 7/15-16 : 1711-1718.
- WACHSTEIN (M.) and ZAK (F.G.). Distribution of alkaline phosphatase in the human liver. *Arch. Path.*, 1946, 42, 501.
- WACHSTEIN (M.D.), MEISEL (E.). Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH ; a special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1957, 27/2 : 13-25.
- WOLF (A.), KABAT (E.A.) et NEWMAN (W.). Histochemical studies on tissue enzymes. A study of the distribution of acid phosphatases with special reference to the nervous system. *Amer. J. Pathol.*, 1943, 19 : 323-439.
- YOKOHAMA (H.O.), STOWELL (R.E.) and MATHEWS (R.M.). Evaluation of histochemical alkaline phosphatase technics. *Anat. Rec.*, 1951, 109, 139.

ANHYDRASE CARBONIQUE ET SUCCINO-DESHYDROGENASE

- FARBER (E.), STERNBERG (W.) et DUNLAP (C.). Histochemical localization of specific oxidatives enzymes : I. — Tetrazolium stains for diphosphopyridine nucleotide diaphorase and triphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J. Histochem. Cytochem.* 1956, 4 : 254-265.
- FARBER (E.), STERNBERG (W.) et DUNLAP (C.). Histochemical localization of specific oxidative enzymes. III. — Evaluation studies of tetrazolium staining methods for D P N — diaphorase, T P N diaphorase and the succinicdehydrogenase system. *J. Histochem.* 1956, 4 : 284-294.

- FARBER (E.) et BUEDING (E.). Histochemical localization of specific oxidative enzymes. V. — The dissociation of succinic dehydrogenase from carriers by lipase and the specific histochemical localization of the dehydrogenase with phenazine methosulfate and tetrazolium salts. *J. Histochem. Cytochem.* 1956, 4 : 357-362.
- GREEN (D.E.) et KOHOUT (P.M.). Isolation of succinic dehydrogenase from beef Heart Mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta*, 1954, 14 : 295.
- KEARNEY (E.). On the requirement of succinic Dehydrogenase for Inorganic Phosphate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1955, 55 : 579-581.
- KEARNEY (E.) et SINGER (T.). Studies on succinic dehydrogenase. I et II. *J. Biol. Chem.* 1956, 219 : 599-613 et 223 : 963-975.
- KURATA (K.). Cité dans LISON (L.). Histochimie et Cytochimie animales. *Gauthiers-Villars*, Paris 1960, p. 763.
- PADYKULA (H.A.). The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the Rat. *Am. J. Anat.*, 1952, 91, 107.
- RUTENBURG (A.M.), WOLMAN (M.) et SELIGMAN (A.M.). Comparative distribution of succinic dehydrogenase in six mammals and modification in the histochemical technic. *J. Histochem. Cytochem.* 1953, 1 : 66-81.
- SELIGMAN (A.M.) and RUTENBURG (A.M.). Histochemical demonstration of succinic dehydrogenase. *Science*, 1951, 113, 317.
- SEMENOFF (W.E.). Mikrochemische Bestimmung der Aktivitat der succinodhydrase in den Organen der Rana Temporaria. *Zeit. Zellforsch.*, 1935, 22, 305.
- SINGER (T.), KEARNEY (E.) et MASSEY. Newer Knowledge of succinic dehydrogenase. *Advances in Enzymologie.* 1957, 18 : 65-111.
- TORDER-CARIDROIT (C.) et WEGMANN (R.). Différenciation histochimique de la succino-oxydase et de la succino-deshydrogénase. *Ann. Histochim.* 1959, 4 : 196-209.
- VERNE (J.) et WEGMANN (R.). Considération sur la réduction des sels de tétrazolium (une revue). *Ann. Histochim.* 1956, 1 : 199-212.

Induction et différenciation cellulaires

- BRACHET (A.). L'œuf et les facteurs de l'ontogenèse. Doin, Paris, 1931.
- BRACHET (J.) et ABERCHROMBIE (M.). *Advances in Morphogenesis*. Vol. I, Acad. Press New-York 1961.
- BRACHET (J.). *Biochemical Cytology*. Acad. Press, Inc., New-York 1957.
- BRACHET (J.). Le rôle physiologique et morphologique du noyau. Hermann, Paris, 1938.
- BRACHET (J.). *The biochemistry of development*. Pergamon Press, London, Oxford, N.-Y., Paris, 1960.
- CASPERSSON (T.O.). *Cell growth and cell function*, 1950. N.-Y., Norton Cy.
- CHAMBERS (R.), CHAMBERS (E.L.). *Explorations into the Nature of the Living Cell*. Harward University Press, Cambridge, Massachusetts, 1961.
- CHILD (C.M.). *Patterns and problems of development*. Chicago. University of Chicago Press 1941.
- DALCQ (A.). *L'organisation de l'œuf chez les chordés*. Gauthiers-Villars, Paris, 1935.
- DALCQ (A.). *Form and causality in early development*. Cambridge University Press, 1938.
- DALCQ (A.). *L'œuf et son dynamisme organisateur*. Albin Michel, Paris, 1941.

- DANIELLI (J.F.). Cytochemistry. A critical approach, 1953 London, Chapman.
- DREW (A.H.). Growth and differentiation in tissue cultures. *Brit. J. exp. Path.*, 4, 46, 1923.
- EKMANN (G.). Experimentelle Beiträge zur Herzentwicklung der Amphibien. *Arch. f. Entw'mech*, 106, 320, 1925.
- EPHROSSI (B.). Enzymes, Units of biological structure and function. Acad. Press, New-York, 1956.
- FAURÉ-FREMIET (M.E.) and MUGARD (H.). Ségrégation d'un matériel cortical au cours de la segmentation chez l'œuf de *Teredo norvegica*. C.R. Acad. Sci., Paris, 227, 1409, 1948.
- FISCHER (A.). Biology of Tissue cells, 1946. Univ. Press, Cambridge.
- GAILLARD (P.J.). Hormones regulating growth and differentiation in embryonic explants, 1942. *Actual. Scient. e Industr.* n° 923. Hermann, Paris.
- HAMBURGER (V.). Analysis of development. W.B. Saunders Co, Philadelphia and London 1955.
- HAMBURGER (V.). A manual of Experimental Embryology. The University of Chicago Press 1960.
- HOLTFRETER (J.). Changes of structure and the Kinetics of differentiating embryonic cells. *J. Morph.* 80, 57, 1947.
- JACOBSON (A.G.). The roles of neural and non-neural tissues in less induction. *Journ. Exper. Zool.*, 139, 525, 1958.
- LEHMANN (F.E.). Einführung in die physiologische Embryologie. Basel, Birkhäuser 1945.
- MAC ELROY (W.D.) and GLASS (B.). The Chemical basis of development. *Symposium Johns Hopkins Univ.* 1958, p. 448. Baltimore, Md.
- MOSCONA (A.). Eighteenth Symposium of the Society for the Study of Development and Growth. The Ronald Press, New-York 1959.
- NEEDHAM (J.). Chemical embryology. 3 vol. Cambridge University Press, 1931.
- NEEDHAM (J.). Biochemistry and Morphogenesis. Cambridge University Press, London 1942.
- PASTEELS. Etudes sur la gastrulation des Vertébrés mésoblastiques. III. Oiseaux. *Arch. de Biol.*, 48, 382, 1937.
- RAVEN (Chr. P.). An outline of developmental Physiology, 1954. Pergamon Press, Londres.
- RUGH, ROBERTS. Experimental Embryology. A manual of Techniques and Procedures. Minneapolis. Burgess. Pub. 6, 1948.
- SPEMANN (H.). Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung Springer, Berlin, 1936.
- SPEMANN (H.). Embryonic development and induction. New Haven. Yale University Press 1938.
- SPEMANN (H.) and MANGOLD (H.). Über Induktion von Embryonalakgen durch Implantation artfremder Organisatoren. *Arch. f. mikr. Anat.* 100, 599, 1924.
- VOGT (W.). Gestaltungsanalyse am Amphibien Kien mit örlcher Vitalfärbung I. Methodik. *Arch. f. Entw'mech* 106, 542, 1925.
- WACHSTEIN (M.) and MEISEL (E.). The distribution of histochemically demonstrable succinichydrogenase and of mitochondria in tongue and skeletal muscles. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1, 483, 1955.
- WADDINGTON (C.H.). Principles of Embryology. Allen and Unwin Ltd., London 1956.
- WADDINGTON (C.H.). Biological organization, Cellular and Sub-cellular New-York, Pergamon Press, 1959.

- WEISS (P.). International Symposium on the cellular basis of differentiation, 1953, in *Journ. of Embryol. and exper. Morphol.*, 1953, vol. 1, fasc. 3, 144 p.
- WEISS (P.). Symposium of the Society for experimental Biology n° II : growth in relation to differentiation and morphogenesis 1948, Univers. Press, Cambridge. 365 p.
- WEISS (P.). The so-called organizer and the problem of organisation in amphibian development, *Physiol. Rev.* 15 : 639, 1935.
- WEISS (P.). Principales of development. Holt and C°, New-York, 1939. 601 p.
- WILDE (C.E.), Jr. Cell, Organism and Milieu. 17 th Growth Symposium, D. Rudnick, ed. pp.3-45.
- WILLIER (B.H.) WEISS (P.A.) and HAMBURGER (V.). Analyses of Development, Philadelphia, Sannders 1955.
- WILLMER (E.N.). Cytology and Evolution. Academic Press New-York and London, 1960.
- WITSCH (E.). Genes and inductors of sex differenciation in Amphibians. *Quart. Rev. Biol.*, 9, 460, 1934.
- WOERDEMAN (M.W.) and RAVEN (Chr. P.). Experimental Embryology. Elsevier Publishing C°, inc. 1946.
- YAMADA (T.). The Chemical Basis of Development. (W.D. Mc Elroy and B. Glass, eds) pp. 3-45. Ronald Press, New-York, 1959.

Publications de l'auteur sur le sujet

- CATAYEE (G.). Considérations sur la localisation des phosphomonoestérases acides non spécifiques dans l'ébauche hépatique. *C.R. Biol.*, Fr. 1960, 154/7, (1478).
- CATAYEE (G.) et BONHOMME (Ch). A propos d'une méthode de recherche de l'activité des phosphomonoestérases acides chez l'embryon de Poulet au cours des toutes premières heures d'incubation et de la répartition de ces enzymes dans les premiers développements de son système nerveux. *C.R. Soc. Biol.*, Fr. 1961, 155/12, (2411).
- CATAYEE (G.). A propos de la répartition des phosphomonoestérases acides non spécifiques au cours du développement de l'ébauche hépatique de l'embryon de Poulet durant les cinq premiers jours de l'incubation. *C.R. XLVIII^{me} réunion de l'Assoc. Anat. Toulouse 15-19 Avril 1962* (sous presse).
- CATAYEE (G.). A propos de la répartition des glycérophosphatases acides non spécifiques durant l'organogenèse du foie chez l'embryon de Poulet. Démonstration faite au congrès des Anatomistes. *XLXIII^{me} réunion, Toulouse 15-19 avril 1962*.
- CATAYEE (G.). De quelques aspects graphiques des variations enzymatiques dans le septum transversum et dans les formations hépatiques au cours des premières heures du développement de l'embryon de Poulet. *C.R. Soc. Biol., Fr.*, Séance du 25 juin 1962. (Sous presse).

DEUXIEME THESE

Proposition donnée par la Faculté :

L'AUTORADIOGRAPHIE AVEC LES ISOTOPES MARQUÉS SA PLACE DANS LE METABOLISME GENERAL

VU et approuvé,

MONTPELLIER, le 9 Octobre 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

B. CHARLES

VU et permis d'imprimer :

MONTPELLIER, le 11 Octobre 1962

Le Recteur de l'Académie
de MONTPELLIER,

Pour le Recteur,

Le Vice-Président du Conseil
de l'Université

J. TURCHINI

